

Année 1978 – N° 442

**DISTRIBUTION DES DIFFERENTES ESPECES DE
STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS
DANS L'ORGANISME HUMAIN**

THESE

présentée à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 27 octobre 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

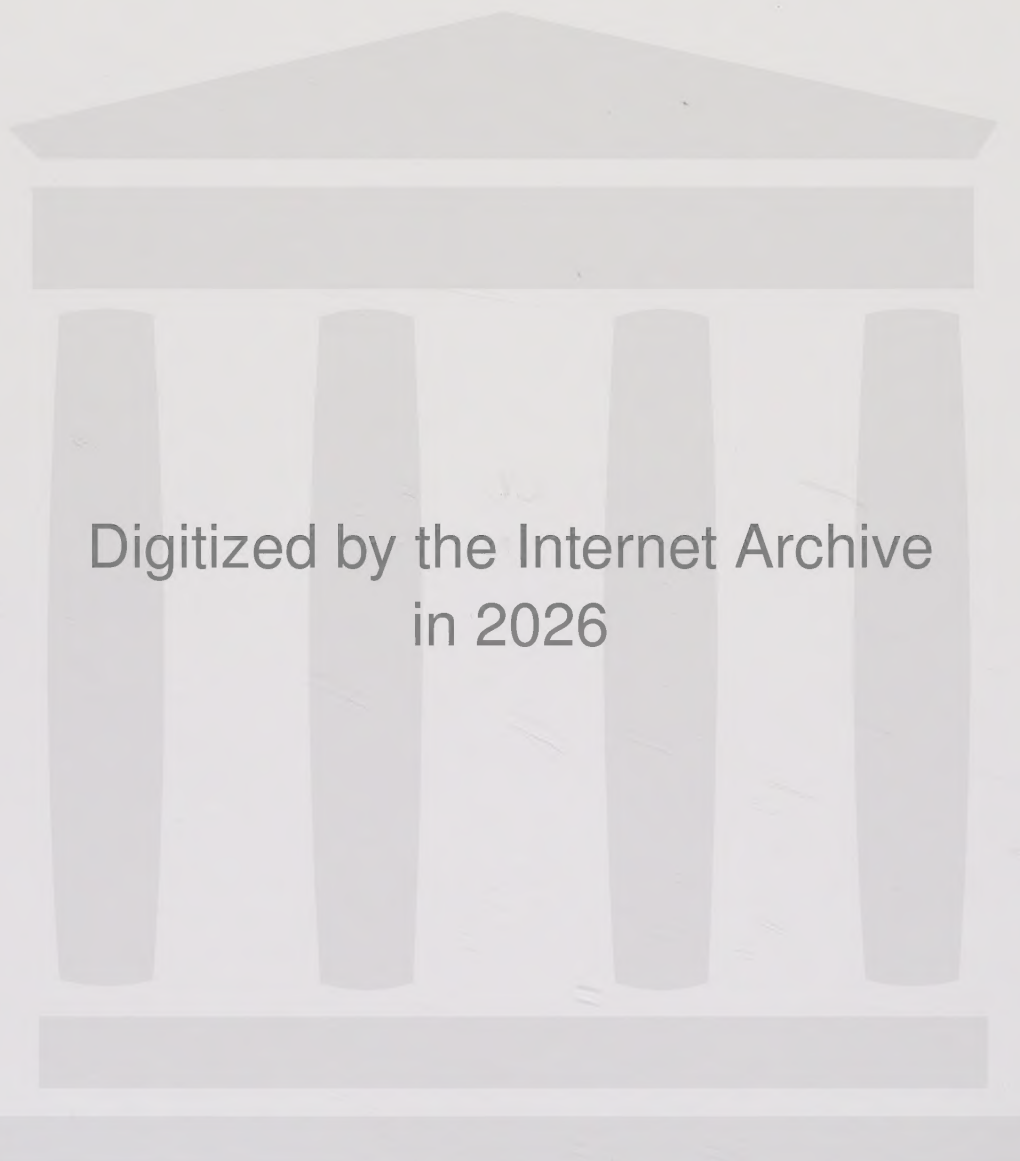
Bruno GONTIER

Interne des Hôpitaux de Lyon

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 20 juin 1953

à LYON (Rhône)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554222_0005

Année 1978 – N° 442

**DISTRIBUTION DES DIFFERENTES ESPECES DE
STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS
DANS L'ORGANISME HUMAIN**

T H E S E

présentée à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 27 octobre 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Bruno GONTIER

Interne des Hôpitaux de Lyon

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 20 juin 1953
à LYON (Rhône)

UNIVERSITEIT LEIDEN
BIBLIOTHEEK

1911

DISTRIBUTION DES DIFFERENTES ESPECES DE
STAPHYLOCOQUES COAGULANS NEGATIFS
DANS L'ORGANISME HUMAIN



1911
DISTRIBUTION DES DIFFERENTES ESPECES DE
STAPHYLOCOQUES COAGULANS NEGATIFS
DANS L'ORGANISME HUMAIN
PAR
M. J. G. VAN NISSEL
LEIDEN, 1911
N° 1000

TABLEAU DU PERSONNEL DE L'UNIVERSITE

Président de l'Université : Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Professeur E. ELBAZ

Deuxième Vice-Président : M.B. ROUSSET

Troisième Vice-Président : M. BRULA

Secrétaire Général : M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE Grange-Blanche : Directeur : Docteur SALLE (M.C.A.)
Alexis Carrel : Directeur : Professeur MORNEX
Sud-Ouest : Directeur : Professeur NORMAND
Lyon-Nord : Directeur : Docteur NEIDHARDT (M.C.A.)
Directeur honoraire : Professeur
A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE : Directeur : Professeur REVILLARD J.P.

TECHNIQUES DE READAPTATION : Directeur : Docteur MORGON (M.C.A.)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES : Directeur : Professeur BIZOLLON C.

SCIENCES ODONTOLOGIQUES : Directeur : Professeur VINCENT R.

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du conseil de l'U.E.R. : Professeur R. GUILLET

Directeur : M. MILLON A.

MATHEMATIQUES : Directeur : Professeur Ph PICARD

PHYSIQUE : Directeur : Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE : Directeur : Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE : Directeur : Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Directeur : Professeur WORDE J.F.

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 1 : Directeur M.VILLE A.
(MdC)

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 2 : Directeur M. GALLET J.
Directeur E.N.S.A.M

OBSERVATOIRE : Directeur : M. MONNET Guy

PHYSIQUE NUCLEAIRE : Directeur : Professeur GUSAKOW

MECANIQUE : Directeur : Mle COMTE BELLOT

A ma femme,

A mes parents,

A ma belle-mère,

A ma famille,

A mes amis.

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur FLEURETTE,

vous avez bien voulu nous confier ce travail qui nous a fait découvrir le monde, pour nous jusqu'alors inconnu, de la Bactériologie.

Acceptez ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

A nos juges,

Monsieur le Professeur VIALLIER-RAYNARD

Nous vous sommes très reconnaissant d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous sollicitons toute votre indulgence et nous vous assurons de notre profond respect.

Monsieur le Professeur BRUNE

Vous nous avez permis d'effectuer une partie de ce travail dans votre service et vous avez accepté de le juger ; soyez-en ici doublement remercié.

Monsieur le Médecin en Chef GARRIGUE

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Chef du laboratoire de Biologie Médicale de

l'Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes.

Nous avons apprécié au cours de notre stage au laboratoire, votre esprit de rigueur intellectuelle. Vous n'avez ménagé pour nous, ni votre temps, ni votre peine. Nous voudrions aussi vous remercier de votre bienveillance, pendant ce stage, nous laissant entièrement à notre travail de recherche.

Acceptez ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Médecin Général THALABARD,
Ophtalmologiste des Hôpitaux des Armées
Commandant l'Ecole du Service de Santé des Armées de
Lyon.

A Monsieur le Médecin Général EHRHART
Médecin des Hôpitaux des Armées
Médecin-Chef de l'Hôpital d'Instruction des Armées
Desgenettes.

A Monsieur le Médecin en Chef SEPETJIAN
Commandant en second l'Ecole du Service de Santé des
Armées de Lyon.

A nos Commandants de Compagnie.

A Mademoiselle le Docteur BRUN ,

Nous vous remercions de nous avoir guidé pas à pas,
dans l'élaboration de ce travail

A Madame FOREY,

pour sa précieuse collaboration

A Monsieur le Médecin Principal J.J. FLOCH

Biologiste des Hôpitaux des Armées

A Monsieur le Médecin en Chef COLETTE

Assistant des Hôpitaux des Armées

Aux Assistants et au personnel du laboratoire
de Biologie Médicale de l'Hôpital d'Instruction des
Armées Desgenettes

Au personnel du laboratoire de Bactériologie de la
Faculté de Médecine Alexis Carrel.

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
<u>1ère partie : la flore de l'organisme humain</u>	6
A - Les différents modes de prélèvement nécessaires à l'étude de la flore microbienne de l'homme	7
I - Prélèvements digestifs	7
1) Exonérations spontanées	7
2) Contenu intestinal (grêle et colon)	7
- prélèvements au cours d'intervention chirurgicales	7
- prélèvements par intubation	8
. tubes ouverts	
. tubes fermés	
. tubes porteurs de capsule	
. tubes à transit rapide	
- capsules libres	12
- prélèvements par biopsie	13
- étude de la valeur relative de ces techniques	13
3) Contenu de l'estomac	13
II - Prélèvements vaginaux	14
III - Prélèvements respiratoires	14
1) Au niveau de la cavité buccopharyngée	14
- prélèvement par écouvillon stérile	
- recueil de la salive	
- lavage de l'oropharynx	
2) Au niveau des voies aériennes inférieures	15
- les expectorations	15
- le tubage	16
- l'endoscopie bronchique	16
. les anciens bronchoscopes rigides	
. les nouveaux fibroscopes souples	
. les lavages bronchiques	
- la ponction transtrachéale	18
- prélèvements peropératoires	19
- comparaison des différentes techniques	
IV - Enfants	20
1) Prélèvements digestifs	
2) Prélèvements respiratoires	
B - Transport	20
I - Prélèvements digestifs	20
1) Exonérations spontanées	
2) Autres prélèvements digestifs	
II - Prélèvements vaginaux	22
III - Prélèvements respiratoires	22

C - Etude bactériologique des prélèvements	22
I - Ensemencement	22
1) Milieux de culture	
2) Techniques d'ensemencement et numération des germes	
- isolement quantitatif	
- isolement qualitatif	
- numération	
II - Incubation	24
1) Aérobiose	
2) Anaérobiose	
- méthode conventionnelle	
- méthode des "roll-tubes"	
- chambres anaérobies	
III - Isolement des Staphylocoques et Microcoques	25
D - Microorganismes identifiés par les différents auteurs	26
I - Microorganismes des exonérations spontanées de l'adulte	26
1) Numérations globales	
2) Composition	
3) Les micrococcaceae dans les exonérations spontanées de l'adulte	
4) Facteurs de variation	
II - Flore des autres prélèvements digestifs	31
1) Flore intestinale	31
2) Flore microbienne de l'estomac	36
III - Flore vaginale de l'adulte	36
1) Numération globale	
2) Composition	
3) Place des Micrococcaceae	
4) Facteurs de variation	
IV - Flore des voies aériennes de l'adulte	40
1) Flore oropharyngée	40
a) Numération globale	
b) Composition	
c) Place des micrococcaceae	
2) Flore des voies aériennes inférieures	43
a) Numération globale	
b) Composition	
c) Place des micrococcaceae	
V - Flore de l'enfant et du nourrisson	47
1) Flore des exonérations spontanées	47
a) Composition	
b) Place des micrococcaceae	

2) Flore des autres prélèvements digestifs	50
a) Composition	
b) Place des Micrococcaceae	
3) Flore des voies aériennes	50
<u>2ème partie : Rappel bactériologique</u>	53
A - Taxonomie	54
- Diagnostic de genre	54
- Diagnostic d'espèce	56
B - Substances élaborées par les Staphylocoques	59
1) Toxines chez <u>S. aureus</u>	59
2) Toxines chez les Staphylocoques coagulase négatifs	60
3) Enzymes chez <u>S. aureus</u>	60
4) Enzymes chez les Staphylocoques coagulase négatifs	61
C - Structure antigénique	62
1) Antigènes d'espèce	62
2) Antigènes de type	64
D - Lysotypie	65
E - Lyogroupes	65
F - Pouvoir pathogène	66
G - Résistance aux antibiotiques	67
<u>TRAVAIL PERSONNEL</u>	
<u>1ère partie : Matériel et méthodes</u>	68
I - La population étudiée	69
1) Sujets normaux	
2) Sujets hospitalisés	
II - Les prélèvements	69
1) Exonérations spontanées	
2) Les autres prélèvements digestifs	
3) Les expectorations	
4) Autres prélèvements trachéobronchiques	
5) Prélèvements vaginaux	
6) Ganglions thoraciques	
III - Examen bactériologique	72
A - Transport	72
B - Milieux de culture	72
. premiers milieux utilisés	
. tentative de mise au point d'un milieu sélectif	
. milieux utilisés	
C - Ensemencement	76
. coprocultures	
. expectorations	
. autres prélèvements	

D - Incubation	77
E - Identification des Staphylocoques coagulase négatifs	78
. recherche de la sensibilité à la lysostaphine et de la résistance au lysozyme	
. identification biochimique par micro- méthode standardisée	
. recherche de la sensibilité aux anti- biotiques	
. recherche de la DNase	
. recherche de l'hémolyse	
. recherche de la protéine A	
<u>2ème partie : Résultats</u>	86
A - Répartition des souches de Staphylocoques coagulase négatifs en fonction des différentes espèces de Schleifer et Kloos	87
B - Identification des espèces de Staphylocoques coagu- lase négatifs	87
1) <u>S. epidermidis</u>	87
2) <u>S. haemolyticus</u>	95
3) <u>S. hominis</u>	96
4) <u>S. warneri</u>	97
5) <u>S. capitis</u>	98
6) <u>S. simulans</u>	98
7) <u>S. saprophyticus</u>	98
8) <u>S. cohnii</u>	99
9) <u>S. xylosus</u>	99
C - Résultats de la recherche de certaines enzymes et toxines	100
1) Recherche de la DNase	100
2) Recherche des hémolysines	102
D - Recherche de la protéine A	109
E - Recherche des antigènes de <u>S. aureus</u> chez <u>S. haemo- lyticus</u>	110
F - Recherche de la sensibilité aux antibiotiques	110
1) par la méthode des disques	
2) par la méthode des CMI	
DISCUSSION	127
CONCLUSIONS	
RESUME	

INTRODUCTION

Bien des travaux ont précédé le nôtre, qui établissaient la carte des genres et espèces microbiens portés par l'homme sur sa peau ou dans les cavités internes de son corps.

Nous citerons tout particulièrement les articles relatifs à l'étude de la distribution cutanée des espèces de Staphylocoques coagulase négatifs, publiés ces deux dernières années.

Néanmoins, nul, jusqu'ici ne s'était déterminé à connaître les espèces de Staphylocoques coagulase négatifs ou de Microcoques vivant à l'intérieur du tube digestif de l'homme ou de son arbre bronchique.

C'est à ce groupe bactérien unique que nous avons consacré ce travail et que nous avons, avec soins et patience, recherché la présence de ces souches dans différents prélèvements digestifs ou respiratoires de l'homme. L'objectif de cette connaissance étant de comparer les espèces de Staphylocoques coagulase négatifs isolées à celles, commensales de la peau, et à celles responsables d'infections chez l'homme.

B I B L I O G R A P H I E

1ère partie : LA FLORE DE L'ORGANISME HUMAIN

A - Les différents modes de prélèvement nécessaires à l'étude de la flore microbienne de l'homme

Nous excluons de cette analyse bibliographique les techniques de prélèvement de la flore cutanée puisque cette flore n'est pas l'objet de notre étude.

I - PRELEVEMENTS DIGESTIFS

1) Exonérations spontanées

Ce sont les prélèvements les plus facilement obtenus. La seule contrainte est d'utiliser un récipient stérile (plastique, verre ou carton) et de ne pas contaminer l'échantillon au moment du recueil. L'exonération spontanée a été utilisée par de nombreux auteurs, notamment HAENEL, 1965 (85), GORBACH, 1967 (75), DRASAR, 1969 (50), MITSUOKA, 1973-1976 (137-138).

2) Contenu intestinal (grêle et colon)

Plusieurs techniques ont été utilisées

- PRELEVEMENTS AU COURS D'INTERVENTIONS CHIRURGICALES

. La ponction du contenu intestinal fut utilisée d'abord par Hewetson 1904 (94), Blacklock 1937 (16), puis bien codifiée par Cregan 1953 (34). Elle consiste à clamber une portion d'intestin grêle 1 à 2,5 cm en amont et en aval du point de ponction, puis à injecter 2 ml de liquide de Ringer stérile à l'aide d'une aiguille montée sur seringue. Il faut agiter pour obtenir un véritable lavage de ce fragment d'intestin, puis retirer le maximum de liquide. Cette technique a été reprise par Bishop, 1960 (15).

. Le recueil direct de liquide ou de matières après ouverture de la paroi intestinale est moins pratiqué :

Hewetson, 1904 (94), Barber, 1946 (9), Bach-Neilson, 1965 (4)

. Enfin le recueil des pièces d'appendicectomie a permis à Hewetson, 1904 (94), Seeliger, 1963 (181), d'effectuer des cultures bactériennes.

Des critiques peuvent être faites à ce type de prélèvements per-opératoires :

- ces sujets ne sont parfois pas exempts de maladie digestive [Bornside, 1966, (18)]

- ces sujets sont pathologiques, puisque nécessitant une intervention chirurgicale

- ces malades sont anesthésiés et à jeûn, donc ont un péristaltisme jéjunoiléal perturbé ; ces critiques ont été nettement formulées par Dack, 1934 (37), Dixon, 1960 (45), Smith, 1965 (187), Drasar, 1966 (49)

- enfin, la numération des germes est relative, car si l'on injecte du liquide, il reste très difficile de récupérer celui-ci en totalité et le facteur de dilution est inconnu [Gorbach, 1967 (77)]

Néanmoins, une série d'avantages peut être notée :

- ces prélèvements per opératoires permettent de localiser exactement la portion d'intestin d'où vient l'échantillon

- si l'aseptie est respectée, il n'y a pas de contamination

- ces prélèvements n'ont pas engendré de complications patentes

- la technique de Cregan présente par rapport aux autres techniques chirurgicales, l'avantage de ne pas nécessiter l'ouverture de la paroi intestinale, donc d'être possible chez des sujets indemnes de toute affection digestive, interventions pour affections gynécologiques par exemple

- PRELEVEMENTS PAR INTUBATION

Le plus souvent, chez l'adulte, la sonde passe par voie orale, mais certains auteurs préfèrent la voie pernasale [Dickman, 1976, (44)]. Quatre types de tube ont été utilisés selon les auteurs

. Les tubes ouverts

Hess, 1912 (93) les utilisait déjà. Actuellement, les tubes sont en plastique et on adapte une seringue pour aspirer les matières liquides. Les premiers millilitres sont rejetés car considérés comme contaminés [Bergogne-Berezin, 1973 (14), Axelsson, 1977 (3)] .

Certains auteurs ont utilisé des tubes identiques lestés par un ballonnet de mercure pour accélérer le transit du tube [Gorbach, 1967 (77) Kalser, 1966 (109)].

Brown, 1972 (20) a fait des prélèvements duodénaux en anaérobiose à l'aide d'un tube stérile en polyvinyl à double lumière, à travers lequel de l'azote sous pression est envoyé pendant le recueil de l'échantillon.

. Les tubes fermés pour réaliser les prélèvements dits protégés. Ces tubes sont utilisés pour diminuer le risque de contamination par la flore buccopharyngée, et éventuellement oesophagienne et gastrique. L'idée vient de Thomson , Einhorn et Coleman en 1930.

L'orifice distal est fermé par une membrane ; le plus souvent, il s'agit d'une mince pellicule de collodion. Cette membrane est rompue au moment du recueil de l'échantillon par l'injection d'air [Nadel, 1956 (148), Buttiaux, 1949 (26), Levrat, 1969 (128), Bergogne-Berezin, 1973 (14)] .

Ici aussi, certains utilisent un ballonnet de mercure : Mainguet, 1960 (134), Vachon, 1968 (199).

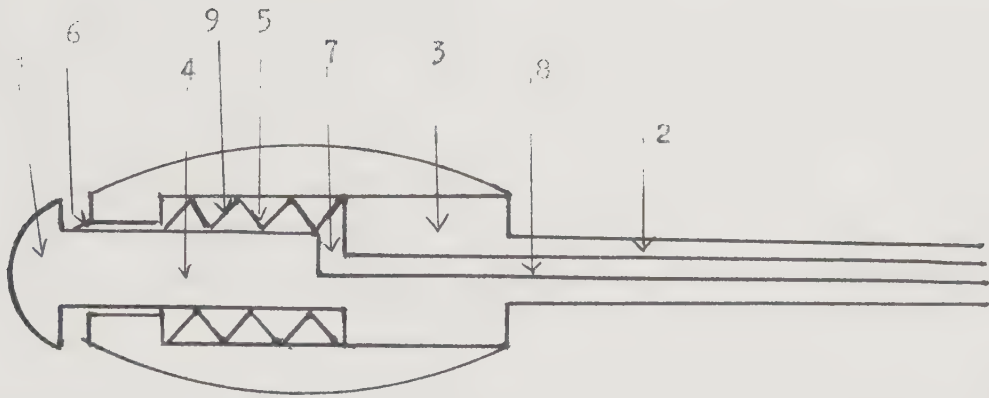
Une variante existe [Kalser, 1966 (109)] : il s'agit d'un système de deux tubes accolés l'un à l'autre avec des orifices distaux décalés, ce qui permet de faire des prélèvements simultanés à deux niveaux différents. Gorbach, 1967(77) utilise de tels tubes pour avoir simultanément des échantillons de l'iléon terminal et du coecum.

. Les tubes porteurs de capsule

Henning, 1959 (91) décrit une capsule fixée au bout d'un tube de Miller Abbott, qui s'ouvrait et se fermait à volonté par pression hydraulique ; son principal inconvénient était sa grande taille : 44,5 x 12 mm.

Shiner a mis au point en 1963 (182) et (183) une nouvelle capsule plus petite (21 x 10 mm) dont le schéma est présenté ci-après

CAPSULE DE SHINER (183)



- 1 : couvercle
- 2 : conduit auquel le tube est attaché
- 3 : piston
- 4 : tige solide reliant le piston au couvercle
- 5 : chambre d'échantillonnage
- 6 : communication étroite entre extérieur et chambre d'échantillonnage
- 7 et 8 : conduits étroits reliant chambre avec tube et seringue
- 9 : ressort replié

Cette capsule est fixée à un long tube opaque aux rayons X, à l'extrémité duquel est adapté une grosse seringue. La structure interne de la capsule, creuse, est partiellement remplie par un piston, relié au couvercle arrondi. L'espace restant qui fait office de chambre d'échantillonnage communique avec l'extérieur par un orifice étroit, quand le couvercle est repoussé en position distale, et avec la seringue par un petit canal creusé dans le piston. Un ressort comprimé se trouve dans cette chambre et assure la fermeture de la capsule pendant sa descente dans le tube digestif. Puis quand on aspire avec la seringue, la pression dans la chambre diminue, ce qui repousse le piston et éloigne le couvercle. En même temps, la succion continuée pompe les liquides se trouvant dans la chambre et au delà. Quand la succion est interrompue, le couvercle referme la capsule.

La vérification de l'étanchéité du système, étudiée chez 15 sujets, par comparaison entre flore jéjunale et pharyngienne a montré une contamination pharyngée de la flore jéjunale.

Shiner a montré par des expériences in vitro, que la contamination de l'intérieur de la capsule, fermée, par les germes externes était possible. Pour remédier à cela, la capsule a été enduite extérieurement d'un produit bactéricide et de l'eau sous pression a été injectée pendant la descente dans le tube digestif.

Les inconvénients majeurs de cette capsule, notés par Kalser, 1965 (108) sont la petite taille de la chambre et les défaillances mécaniques.

. Le tube à transit rapide

Mis au point par Wiggins, 1967 (207), il permet d'obtenir en une seule intubation, de multiples échantillons qui sont rapidement ramenés à la surface, ce qui limite la prolifération bactérienne qui peut se produire dans les tubes moins complexes.

Les inconvénients de ces techniques d'intubation sont :

- l'inconfort du sujet
- la stimulation des sécrétions digestives et la stimulation du péristaltisme
- mais surtout le principal inconvénient est le risque de contamination oropharyngée [Drasar, 1974 (48)]
- pour le tubage fermé, on a parfois des difficultés à rompre la membrane, ce qui entraîne l'échec du prélèvement [Bergogne-Berezin, 1973 (14), Mainguet, 1960 (134)]
- la localisation exacte du tube est imprécise, même si on utilise des tubes opaques aux rayons X ; elle peut être facilitée par la mesure de la longueur du tube non avalé, par l'injection de produits opaques dans le tube, après l'échantillonnage [Gorbach, 1967 (77)] et par les ballonnets de mercure.

Mais l'intubation présente des avantages :

- absence d'anesthésie
- les prises d'échantillons peuvent être répétées au cours de la journée, avant et après un repas par exemple.

Bien que l'intubation ne soit pas le moyen idéal, ses avantages l'emportent sur ses inconvénients et elle doit donc pour certains auteurs [Drasar, 1974 (48)] être préférée aux autres techniques disponibles.

- CAPSULES LIBRES

Ces capsules indépendantes, non reliées à un tube, sont ingérées, puis récupérées par les voies naturelles (Van Der Reis, 1925 (201)). L'idée de Van Der Reis a été reprise par Perrenoud qui a innové une nouvelle technique : la pyxigraphie [du grec : ($\pi\upsilon\chi\iota\varsigma$) = capsule] en 1957 (161). Il utilise une capsule télécommandée, de forme cylindrique de 31 x 9,2 mm pesant 5 grammes. Elle comporte une enveloppe externe munie de trois "fenêtres" ; un piston creux, percé de fenêtres identiques, qui coulisse à l'intérieur sous l'action d'un ressort lié à un dispositif métallique de déclenchement. Celui-ci est commandé de l'extérieur par un champ d'induction magnétique à haute fréquence qui chauffe et fait fondre un tube en alliage, à point de fusion bas, qui maintenait le ressort armé. La course du piston s'effectue en 20 secondes pendant lesquelles les "fenêtres" externes et internes correspondent un instant, permettant l'aspiration de 0,1 à 0,2 ml du milieu ambiant. L'inocuité est parfaite. La capsule est utilisable à jeun ou au milieu d'un repas. Il semble que les processus biologiques et physiologiques soient à peu près stoppés dans la capsule (les analyses chimiques montrent de nombreux aliments non digérés), donc les renseignements sont valables, même si le récipient est recueilli 24 ou 36 heures plus tard (ce qui a été vérifié par l'exclusion rapide de la capsule par des laxatifs).

Il ne semble pas y avoir de contamination, grâce à la matière siliconée qui sert de frein au ressort et qui se répand sur les bords externes de la capsule, en formant un film étanche. Mais un problème demeure : celui de la contamination de l'extérieur de la capsule par les germes des matières fécales ; en effet, il est pratiquement impossible de nettoyer la coque externe de la capsule, en particulier dans les anfractuosités des "fenêtres" ; il est donc possible qu'une partie des germes cultivés proviennent des matières fécales.

Hirtzmann et Reuter, 1963 (95) ont utilisé une capsule de 23,7 x 8,5 mm, indépendante elle aussi, mais entièrement automatique. Un mécanisme de minuterie, règle l'ouverture puis la fermeture de la fente après un temps mis au point par avance.

- PRELEVEMENTS PAR BIOPSIE

Certains auteurs, pour avoir une bonne idée de la microflore de la paroi intestinale (et non de la lumière) ont pratiqué des cultures bactériennes à partir de prélèvements biopsiques lavés plusieurs fois au sérum physiologique : Bergogne - Berezin, 1976 (14), Nelson, 1970 (150), Plaut, 1967 (171).

- ETUDE DE LA VALEUR RELATIVE de ces différentes techniques de recueil du contenu intestinal

Anderson, 1958 (2) a trouvé des résultats semblables entre la ponction per-opératoire à l'aiguille et l'intubation (tube ouvert) chez 4 sujets. L'expérience de Gorbach chez les animaux (aspiration, puis prélèvement chirurgical chez 8 chiens) semble le confirmer, 1967 (77).

Kalser, 1965 (108), 1966 (109) n'a pas trouvé de différences en utilisant la capsule de Shiner et un tube en polyvinyl ouvert à son extrémité, chez 10 sujets. Des résultats semblables ont été rapportés par Gorbach, 1967 (77), Williams et Drasar, 1972 (48).

Si certains auteurs [Levrat, 1969(128)] utilisant le tubage protégé trouvent une flore nettement moins riche que celle retrouvée par les sondes ouvertes, d'autres [Bergogne-Berezin, 1973 (14)] trouvent des résultats identiques.

3) Contenu de l'estomac

Ce sont essentiellement des méthodes d'intubation, identiques à celles du grêle, qui sont utilisées ; elles sont souvent le 1er temps de l'exploration de celui-ci.

II - PRELEVEMENTS VAGINAUX

Le prélèvement se fait sans nettoyage, ni antiseptie et avant l'exploration digitale. Il se fait le plus souvent au niveau du cul de sac vaginal postérieur, ou du tiers postérieur du vagin, à l'aide d'un spéculum non lubrifié, propre, mais rarement stérile [Ohm, 1976 (154)]. Parfois, le prélèvement est effectué sur la paroi vaginale, à mi-hauteur, de façon circulaire [Elkins, 1974 (52) ; Pfau, 1977 (163)] ou même au niveau de l'orifice cervical [Thabaut, 1974 (197)] ou de la face externe du col [Gorbach, 1973 (74)].

Les techniques de prélèvement sont variées :

- avec une petite éponge de 3 x 1 x 1 cm tenue par une pince [De Louvois, 1975 (41)]
- avec un écouvillon [Elkins, 1974 (52), Bartlett, 1977 (12), Pfau, 1977 (163)]
- avec une anse de platine calibrée (0,01 ml) [Levison, 1977 (127)]
- par aspiration à l'aide d'une pipette Pasteur [Thabaut, 1974 (197)]

Certains prélèvements sont faits par les femmes elles-mêmes, chez elles [Bartlett, 1977 (12)].

III - PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES

Les prélèvements sont faits au niveau des bronches, de la trachée et de la cavité buccopharyngée.

1) Au niveau de la cavité buccopharyngée, on distingue principalement trois techniques :

. Le prélèvement par écouvillon stérile, avec lequel on essaie de parcourir la plus grande surface [Laurenzi, 1961 (119), Webb, 1971 (206), Boulay, 1973 (19)].

Inconvénient : la flore buccale varie énormément selon les régions (dos de la langue, sillon gingival, surface des dents [Burnett, 1968 (25)]

Avantage : très facile à réaliser

. Le recueil de la salive

Elle est facile à obtenir : Hardie, 1974 (88), Burnett, 1968 (25), Haenel, 1960 (83). La sécrétion peut être stimulée en faisant mâcher une matière inerte (paraffine, cire d'abeille stérile, chewing-gum) : Burnett, 1968 (25).

Le principal inconvénient est que la salive est un reflet peu fidèle des différentes régions de la cavité buccale ; elle donne surtout un reflet de la flore dorsale de la langue (Burnett).

. Lavage de l'oropharynx

Decelle, 1976 (39) fait effectuer un gargarisme avec 60 cm³ de solution de tampon phosphate à 0,3 mM.

2) Au niveau des voies aériennes inférieures (VAI)

- les EXPECTORATIONS

Examen de routine, facile à obtenir, mais qui présente un inconvénient majeur, la contamination oropharyngée. Cette contamination peut être détectée par la présence de 10 ou plus, cellules épithéliales desquamées par champ de microscope (grossissement 100 fois). A l'inverse, l'authenticité des sécrétions pulmonaires sera vérifiée sur la présence de 25, au moins, cellules des VAI par champ : leucocytes, macrophages alvéolaires ou cellules épithéliales ciliées. Ce système objectif pour évaluer la qualité des crachats a été mis au point par Bartlett, 1974 (10) et repris par Murray, 1975 (147) qui l'a testé sur 382 échantillons.

De nombreux auteurs ont essayé d'améliorer l'utilisation des crachats :

. Homogénéisation par des billes de verre (Jordan, 1976 (105), ou par digestion enzymatique (pancréatine) : Rawlings, 1953 (174).

. Le lavage des crachats a été mis au point pour essayer d'éliminer la contamination oropharyngée : Mulder, 1952 (146), 1961 (145) ; l'expectoration est agitée fortement dans une boîte de Pétri contenant 10 à 15 cm³ de sérum physiologique ; puis une partie de celle-ci est

reprise par une anse et l'opération est répétée. Mais le lavage pour être efficace doit être répété de nombreuses fois : 10 fois pour Laurenzi, 1961 (119). Si l'efficacité de ce lavage est controversée, il est un fait reconnu par de nombreux auteurs, c'est l'augmentation de la fréquence d'isolement d'Haemophilus influenzae après le lavage Lapinski, 1964 (117), Gernez-Rieux, 1964 (68), et Pham, 1963 (164) . Donc lorsque l'on recherche un Haemophilus dans une expectoration, il faut faire un lavage de celle-ci.

. La culture quantitative des crachats donne une idée sur la prédominance des germes : Louria, 1962 (130)

- Le TUBAGE

Il est rarement employé. Laurenzi, 1961 (119) utilise un système de deux tubes concentriques, avec aspiration par le tube intérieur. Un contrôle in vitro montre l'absence de contamination

- L'ENDOSCOPIE BRONCHIQUE

Elle permet la visualisation des VAI, donc le prélèvement dirigé.

. Avec les anciens bronchoscopes rigides, on passait un petit tube en polyéthylène contenant une anse métallique supportant un coton : Laurenzi, 1961 (119), Pecora, 1963 (158), Potter, 1968 (172) ; Lees utilise un catheter en verre, 1959 (122).

Ces bronchoscopes rigides présentaient des inconvénients :

o Inconfort du malade, morbidité non négligeable, surtout chez les insuffisants respiratoires, donc elle était réservée à des sujets sélectionnés (suspicion de néoplasme en particulier)

o Ils nécessitent une anesthésie locale, qui a été très discutée : en effet Ehrlich, 1961 (56), Conte, 1962 (31) et Pecora, 1963 (158) ont montré que les anesthésiques locaux pouvaient inhiber la croissance bactérienne. La tétracaïne serait plus active contre les bactéries que la lignocaïne ; elle inhiberait entre autres, la croissance de Staphylococcus aureus. Pilheu, 1966 (165) a montré que la

lignocaïne a moins d'action que la tétracaïne sur les staphylocoques et les streptocoques, mais une action identique sur Haemophilus influenzae. Okinaka, 1968 (155) par contre a effectué une étude in vitro avec la lignocaïne : il n'a pas constaté d'inhibition de croissance des Staphylococcus aureus, Streptocoques β hémolytiques, Escherichia coli et Klebsiella jusqu'à une concentration de 50 μ g/ml. Wanner, 1973 (205), chez des comateux, n'a pas trouvé de différences entre des prélèvements avant et après anesthésie par lignocaïne.

o Il existe d'autres inconvénients non négligeables : nécessité d'un personnel hautement qualifié et risque de contamination, bien que Laurenzi, 1961 (119) ait testé l'absence de contamination de son bronchoscope in vitro ; Le Melletier, 1971 (125) ayant trouvé une contamination dans 50 % de ses prélèvements (sur 62 cas).

. Les nouveaux fibroscopes souples permettent aussi de faire des prélèvements et ils ont de gros avantages :

o L'examen peut se faire au lit du malade, avec un confort beaucoup plus grand

o La morbidité a considérablement baissé, donc les indications sont beaucoup plus larges

o Elle est bien supportée même chez les malades en état d'insuffisance respiratoire grave

o Elle permet d'aller plus loin que les bronchoscopes rigides et d'atteindre facilement les bronches segmentaires et sous segmentaires.

Wanner, 1973 (205) a utilisé un catheter en polyéthylène muni d'une anse métallique

. Les lavages bronchiques sont intéressants pour les sujets ayant peu de sécrétions (sujets sains en particulier).

Okinaka, 1968 (155) a employé un catheter à double lumière introduit dans un bronchoscope : on injecte 5 ml de sérum physiologique, puis on aspire pour retirer le maximum de liquide (environ 2 ml).

- La PONCTION TRANSTRACHEALE

Elle a été proposée la première fois par Pecora en 1959 (157) pour éviter la contamination qui paraît inéluctable au niveau des voies supralaryngées ; il s'agit d'une aspiration directe percutanée, endotrachéale des sécrétions respiratoires infralaryngées.

o Technique : le patient est couché sur le dos, le cou en hyperextension ; on désinfecte la partie antérieure du cou, puis on pique avec une aiguille sur la ligne médiane à 1 cm en dessous du cartilage cricoïde, entre deux anneaux. On enfile un cathéter dans cette aiguille que l'on relie, après avoir enlevé l'aiguille à une grosse seringue ; on aspire les sécrétions au moment de la toux ; si le patient ne peut pas tousser, on injecte 2 à 3 ml de sérum physiologique. Puis on comprime le point de ponction pendant 5 à 20 minutes.

Cette méthode, utilisée par ailleurs par Lapinski, 1964 (117) a été introduite en France par Le Melletier, 1964 (124). La plupart des auteurs préfèrent piquer dans la membrane cricothyroïdienne plutôt qu'entre deux anneaux trachéaux : Kalinske, 1967 (107), Bartlett 1973 (13) et Jordan, 1976 (105).

o Avantages de la ponction transtrachéale

- Pecora et les autres auteurs retrouvent beaucoup moins de germes que par la méthode de l'endoscopie

- De plus, elle ne nécessite pas un personnel aussi qualifié que pour l'endoscopie

o Inconvénients

- Il existe des faux positifs si le tube est long et remonte dans le pharynx au moment de la toux, mais on aura alors des cellules pavimenteuses dans les sécrétions recueillies

- Il existe aussi des faux négatifs si le prélèvement ne contient pas de mucus [Pecora, 1963 (158)].

- Mais le plus gros inconvénient est sa morbidité :

- Infection du point de pique (rare) : Harken, 1948 (89) lors d'anesthésie ; et Pecora, 1959 (157) : 2 infections par le bacille de Koch sur 400 aspirations chez des tuberculeux
- Emphysème sous cutané : 7 cas sur 115 ponctions pour Kalinske, 1967 (107), dont deux cas graves
- Petite hémoptysie, pratiquement constante
- Spencer, 1972 (192) décrit 3 complications graves dont 2 morts.

La ponction transtrachéale est donc contre-indiquée chez les insuffisants respiratoires et chez les sujets qui toussent beaucoup.

- PRELEVEMENTS PER-OPERATOIRES

Ils sont beaucoup plus rares que ceux pratiqués au niveau du tube digestif. Pecora, 1958 (159) a effectué, lors de thoractomies, des prélèvements biopsiques de tissu pulmonaire et des prélèvements par écouvillon humide sur le moignon trachéal.

- COMPARAISON des différentes techniques de prélèvement.

Kalinske, 1967 (107) trouve une diminution de germe dans l'aspiration trachéale, par rapport aux expectorations ; de même Le Melletier 1967 (124) trouve dans les crachats lavés, beaucoup plus de germes que dans l'aspiration trachéale. Lapinski, 1964 (117) trouve des résultats identiques entre crachats lavés et aspiration trachéale, mais il considère comme flore commensale non significative, la présence dans les VAI, de Streptocoques et de Neisseria catarrhalis d'origine pharyngée ; 2 fois sur 14, il a noté une discordance : un Pneumocoque était isolé du crachat tandis que la trachée restait stérile. Jordan, 1976 (105) trouve une diminution non significative du nombre de germes isolés à partir des sécrétions recueillies par fibroscopie par rapport aux expectorations.

Pecora, 1958 (159), trouve que les expectorations sont plus riches en microorganismes que les prélèvements par bronchoscopie ; les plus pauvres en bactéries restent selon lui, les prélèvements obtenus par ponction transtrachéale. Bartlett, 1976 (11) trouve, de même, moins de germes dans les sécrétions recueillies par aspiration transtrachéale que par aspiration fibroscopique.

IV - ENFANTS

1) Prélèvements digestifs

Les techniques utilisées sont très semblables à celles de l'adulte.

- . per-opératoires [Anderson, 1958 (2), Blacklock, 1937 (16)]
- . par intubation, assez fréquents; la voie pernasale est la plus employée [Anderson, 1958 (2), Challacombe, 1974 (38) Maffei, 1975 (133)].
- . mais le recueil des selles par exonérations spontanées reste la principale méthode.

2) Prélèvements respiratoires

Ce sont essentiellement les prélèvements bucco-pharyngés identiques à ceux pratiqués chez l'adulte

B/ TRANSPORT

Le transport des prélèvements au laboratoire doit être le plus court possible, et idéalement, les échantillons devraient êtreensemencés immédiatement après le prélèvement.

I - PRELEVEMENT DIGESTIFS

1) Exonérations spontanées

La plupart du temps, les auteurs n'utilisent pas de milieu de transport. Crowther, 1971 (35) a montré que les selles entières

peuvent rester plus de 24 heures à la température ordinaire, sans perte des bactéries les plus exigeantes. Mais si l'on veut prolonger le stockage, sa méthode préférée est de diluer les selles au dixième dans du bouillon glycérolé à 10 % et de conserver à - 25°C, à - 78°C dans la neige carbonique ou à -196°C dans l'azote liquide. Ellis Pegler, 1975 (54) place son bouillon glycérolé à 4°C. D'autres auteurs utilisent la réfrigération seule : Seeliger, 1963 (181) : congélation à - 20°C ; Gorbach, 1967 (75) : stockage à +4°C pendant moins de 24 heures ; dans ces conditions, Haenel, 1961 (84) et Cohn, 1965 (30) ont montré que la numération globale des bactéries restait à peu près stable.

Pour l'étude des bactéries anaérobies strictes, la plupart des auteurs utilisent une simple boîte stérile (si le délai d'ensemencement est inférieur à une demi-heure) ou mieux une boîte remplie d'azote (sans oxygène).

2) Autres prélèvements digestifs

Le liquide d'aspiration intestinale possède un nombre total de bactéries nettement inférieur à celui des selles, et il est préférable pour ce type de prélèvement d'ensemencer immédiatement, ou de le diluer dans du bouillon glycérolé, puis de le congeler jusqu'au moment de l'étude Drasar, 1969 (50) .

La congélation simple entraîne une diminution importante des bactéries (Kalser, 1966 (109). Challacombe, 1974 (28) utilise du bouillon coeur glycérolé, mais ne le congèle pas.

Mais beaucoup d'auteurs n'utilisent pas de milieu de transport, que le temps qui précède la mise en culture soit court (moins de 30 minutes) ou long (entre 30 minutes et 6 heures). Un ensemencement tardif présente 2 inconvénients :

- multiplication des germes, à des vitesses différentes
- disparition des germes exigeants, anaérobies stricts en particulier.

Dans tous les cas, les prélèvements devant faire l'objet d'une recherche des bactéries anaérobies, sont recueillies dans des containers stériles, appauvris en oxygène et remplis d'azote : Brown, 1972 (20), Dickmann, 1976 (44), Axelsson, 1977 (3).

II - PRELEVEMENTS VAGINAUX

Certains auteurs n'utilisent pas de milieu de transport car le délai d'ensemencement est très court (inférieur à une demi-heure) : Neary, 1973 (149), Thabaut, 1974 (197).

Elkins, 1974 (52) utilise du sérum physiologique comme milieu de transport et Levison, 1977 (127), un bouillon chocolat.

Le milieu le plus utilisé pour la recherche des bactéries anaérobies est le milieu de Stuart : De Louvois, 1975 (41), Ohm, 1975 (154), Bartlett, 1977 (12).

Levison, 1977, (127) utilise un tube de bouillon coeur-cerveille préréduit, inoculé sous flux de CO₂.

III - PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES

Ici l'utilisation d'un milieu de transport est encore plus rare : Wanner, 1973 (205) utilise un bouillon coeur-cerveille additionné de 0,1 % de gélose et enrichi avec du sang défibriné de lapin.

Les autres auteurs ensemencent rapidement les prélèvements (le plus souvent dans la demi-heure).

C/ ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS

I - ENSEMENCEMENT

1) Milieus de culture

Les milieux de culture utilisés sont très variés ; les principaux milieux utilisés sont les suivants :

- Milieus de culture aérobies

- . milieu gélosé au sang (de mouton, de lapin ou d'homme) parfois additionné d'antibiotiques, qui permet d'isoler un très grand nombre de bactéries
- . milieu gélosé au bromocrésol pourpre, ou à l'éosine-bleu de méthylène, ou milieu de Mac Conkey (pour les entérobactéries)

- . milieu de Chapman (pour les Staphylocoques)
- . milieu de Man Rogosa et Sharpe (pour l'isolement des Lactobacilles)
- . milieu de Sabouraud (pour les levures).

- Milieus de culture anaérobies

- . milieu gélosé au sang (avec ou sans antibiotiques)
- . milieu gélosé au sang cuit

2) Techniques d'ensemencement et numération des germes

- Isolement quantitatif

L'examen direct, après coloration de Gram, permet une appréciation approximative du nombre de bactéries présentes et peut conditionner la gamme des dilutions ; mais cette appréciation peut être faussée, car les bactéries prenant la coloration de Gram, surtout si on examine le prélèvement dilué, adhèrent mal à la lame ; l'application d'un fin film de collodion sur le frottis, avant la coloration de Gram, a permis d'éviter ce phénomène : Petuely, 1960 (162).

Si le prélèvement est liquide, on effectue un étalement avec une pipette coudée, sur une boîte de Pétri, d'une quantité connue d'inoculum (1 goutte ; 0,1 ml, etc...) qui peut être dilué ou non.

Si le prélèvement est solide, on effectue une dilution, puis on l'utilise comme un prélèvement liquide.

Les prélèvements biopsiques sont digérés par une solution de trypsine, puis broyés au mortier et dilués : Bergogne-Berezin, 1973 (14).

- Isolement qualitatif

Si le prélèvement est liquide, on peut soit l'étaler avec une pipette coudée, soit inonder une boîte de Pétri [Boulay, 1973 (19)].

Si le prélèvement est solide, on peut effectuer un épuisement par stries (méthode classique) ou faire des stries parallèles sans jamais repasser au même endroit (Le Noc, 1955 (126)).

- Numération

La numération se fait sur des boîtes comportant de 25 à 250 colonies. Elle peut être globale -tous les germes sont comptés- sur milieu non sélectif ou partielle -seules certaines familles, germes ou espèces sont comptés- sur milieu sélectif. Mais les milieux sélectifs inhibent un peu, le plus souvent, la croissance des bactéries qu'ils favorisent, ce qui fausse la numération.

La numération peut être :

- absolue (nombre de germes pour une certaine quantité d'échantillon)
- semi-quantitative (la croissance est notée de +++ à -) : Cregan, 1953 (34), Anderson, 1958 (2), Bishop, 1960 (15),
- ou relative (nombre de souches isolées) : Bergogne-Berezin, 1973 (14), Seeliger, 1963,(181), Delligiani, 1969, (40), Boulay, 1973 (19).

II - INCUBATION

1) Aérobiose

Elle est effectuée selon les techniques classiques à 37°C pendant 2 à 5 jours. Eventuellement, l'atmosphère peut être enrichie en CO₂

2) Anaérobiose

- Méthodes conventionnelles

Il s'agit principalement des jarres anaérobies contenant un mélange de 90 à 95 % d'azote ou d'hydrogène et de 5 à 10 % de CO₂. Ces jarres constituent une méthode pratique, même pour numérer les bactéries anaérobies ; néanmoins, certains germes anaérobies stricts peuvent mourir pendant les opérations d'ensemencement et de mise en jarre. C'est pourquoi, deux autres méthodes cherchent à réduire au maximum le contact des bactéries avec l'air.

- Méthode des "roll tubes", imaginée par Hungate, 1950 (99), puis modifiée par Moore, 1966 (140), Latham et Sharpe, 1971 (118). Elle a été utilisée par Levison, 1977 (127).

- Chambres anaérobies, inventées pour pouvoir utiliser toutes les techniques bactériologiques standards dans une atmosphère sans oxygène. L'usage de cette chambre permettrait d'isoler 100 fois plus de bactéries que les méthodes standards. Elle a été utilisée par Drasar, 1967 (47), Leach, 1971 (121), Brown, 1972 (20), Dickmann, 1976 (44) et Bartlett, 1977 (12).

III - ISOLEMENT DES STAPHYLOCOQUES ET MICROCOQUES

Le milieu gélosé, hypersalé, mannité de Chapman est pratiquement le seul milieu utilisé pour l'isolement des Staphylocoques, mais parfois ces derniers, ainsi que les Microcoques sont aussi isolés sur milieu non sélectif (milieu gélosé au sang par exemple).

Les critères de diagnostic les plus souvent utilisés sont les suivants : cocci prenant la coloration de Gram et possédant une catalase.

Staphylococcus aureus coagule le plasma de lapin et fermente le mannitol.

La plupart des auteurs classent les autres Staphylocoques et les Microcoques dans l'espèce Staphylococcus epidermidis ou Staphylococcus albus, ou Staphylocoque "non pathogène, (tous ces termes ont maintenant disparus ou sont pris dans un sens taxonomique plus précis, dont nous reparlerons).

Très peu d'auteurs font la différence entre Staphylocoques coagulase négatifs et Microcoques (en particulier par la recherche de l'oxydation et de la fermentation du glucose).

Nous avons trouvé des publications concernant la distribution des espèces de Staphylocoques coagulase négatifs sur la peau humaine, mais nous n'avons pas eu connaissance d'articles récents, analysant avec la précision d'une étude bactériologique, leur distribution dans d'autres prélèvements.

D/ MICROORGANISMES IDENTIFIES PAR LES DIFFERENTS AUTEURS

Le nombre et les espèces de bactéries dépendent beaucoup de la manière dont sont faites la collecte des échantillons, la dilution et la culture des bactéries [Donaldson, 1964 (46)].

I - MICROORGANISMES DES EXONERATIONS SPONTANÉES DE L'ADULTE

1) Numérations globales des bactéries aérobies, anaérobies facultatives et anaérobies strictes :

- A l'examen microscopique, on observe en moyenne entre 1 et 3×10^{11} bactéries par gramme de fèces
- En culture, la numération globale des bactéries varie de 10^9 à 10^{11} bactéries par gramme de fèces (Tableau I).

La différence entre ces deux numérations n'est pas due, comme on le pensait initialement, à des microorganismes morts, mais plutôt à une partie significative de la flore qui a des exigences particulières (anaérobiose) en particulier [Drasar, 1967 (47)].

Gibbons, 1967 (10) a en effet montré qu'une souris "germ free" contaminée par une seule espèce bactérienne aérobie (Escherichia coli) ne présente pas de numération différente entre l'examen direct et la culture. De plus, les dernières techniques d'anaérobiose permettent de cultiver la plus grande partie des microorganismes observés à l'examen direct.

2) Composition de la flore fécale

- Les germes aérobies représentent à peu près 1 % de la flore globale :

Gorbach, 1967 (75)	:	$10^{7,3}$ à $10^{8,1}$	germes/gramme de fèces
Floch, 1968 (66)	:	$10^{7,2}$	germes/gramme de fèces
Ellis-Pegler, 1975 (54)	:	$10^{7,4}$	germes/gramme de fèces

Les principales bactéries sont : Escherichia coli qui représente environ 80 % de la flore aérobie, les autres entérobactéries et les streptocoques (en particulier Streptococcus faecalis).

Tableau I

NUMERATION GLOBALE DES BACTERIES AEROBIES ET ANAEROBIES DES
EXONERATIONS SPONTANEEES DE L'ADULTE

Auteur	Année	Référence	Numération globale (nombre de germes par gramme de selles)
VAN HOUTTE	1966	202	$8,3 \times 10^9$
GORBACH	1967	75	$10^{9,1}$ à $10^{9,8}$
FLOCH	1968	66	$10^{9,4}$
ELLER	1971	53	$1,14 \times 10^{11}$
MOORE	1974	141	$9,9 \times 10^{10}$
FINEGOLD	1975	60	$9,8 \times 10^{10}$
HOLDEMAN	1976	98	$7,9 \times 10^{10}$

- Les germes anaérobies représentent plus de 99 % de la flore globale. Les principaux sont : les Bacteroides et les Bifidobacterium qui représentent 90 à 99 % de la flore globale. Ces derniers sont retrouvés dans tous les prélèvements.

3) Les Micrococcaceae dans les exonérations spontanées de l'adulte

On voit d'après le tableau II que les Micrococcaceae sont isolés dans environ 70 % des prélèvements. Leur nombre varie de 10^2 à 10^7 par gramme de fèces, avec une moyenne de 10^3 .

Très peu d'auteurs ont différenciés les Staphylocoques des Micrococcus. Mainguet, 1960 (134) a isolé 4 Staphylococcus aureus et 2 Staphylococcus albus sur 22 prélèvements.

Haenel, 1965 (85) a isolé 251 souches de Staphylocoques sur 321 prélèvements; parmi ces 251 souches, 92 (soit 37 % des souches isolées) élaboraient un pigment jaune et 46 ont été identifiées comme Staphylococcus aureus.

Burbianka, 1961 (24) a trouvé 30 % de souches de Staphylocoques, qui sécrétaient une entérotoxine.

4) Facteurs de variation

Il existe des variations importantes entre la flore de chaque individu ; ces facteurs de variation sont principalement : la nourriture [Donaldson, 1964 (46), Goldsmith, 1965 (71)], les facteurs environnants et les relations interbactériennes [Raibaud, 1975 (173)].

D'autres auteurs ont noté une certaine permanence du portage chez un même individu pendant des périodes supérieures à 6 mois : Haenel, 1961 (84), Ketyi, 1964 (110), Zubrzycki, 1962 (209), Gorbach, 1967 (75 - 76), Mitsuoka, 1973, (137). Par contre, Hermann, 1954 (92), Kumper, 1962 (115) et Seeliger, 1963 (181) ont trouvé des variations importantes dans la composition de la flore fécale chez un même sujet.

Tableau II

MICROCOCCACEAE DANS LES EXONERATIONS SPONTANÉES DE L'ADULTE

Auteur (référence)	Année	Nombre de prélèvements	Pourcentage de prélèvements contenant des Micrococcaceae
HAENEL (86)	1957	2*	
MAINGUET (134)	1960	22	27 %
BURBIANKA (24)	1961		43 à 64 %
SMITH (188)	1961	10	
ZUBRZYCKI (209)	1961	4*	
SEELIGER (181)	1963	6	50 %
KETTYI BARNA (110)	1964	43	47 %
HAENEL (85)	1965	321	78 %
VAN HOUTE (202)	1966	8	90 %
GORBACH (75)	1967	110	
DRASAR (50)	1969	25	
MATA (136)	1969	12	50 %
FINEGOLD (61)	1970	31	3 %
MITSUOKA (137)	1973	29	90 %
MOORE (141)	1974	20	
ELLIS PEGGLER (54)	1975	16	90 %
HOLDEMAN (98)	1976	25	
MITSUOKA (138)	1976	42	78 %

* Nombre de personnes (plusieurs prélèvements ayant été effectués chez une même personne).

** par gramme de matière

Tableau II (suite)

Micrococcaceae		Remarques
Numérations extrêmes **	Numération moyenne **	
	5×10^5	
		4 Staphylococcus aureus 2 Staphylococcus albus (sujets atteints de diarrhée chronique)
		30 % des souches sont entérotoxiques
$10^2 - 10^3$		
	10^2	
$10^5 - 10^9$	10^7	
$10^4 - 10^7$	10^5	
$10 - 10^5$	10^3	37 % des souches ont un pigment et la moitié (18,5 % des souches) est iden- tifiée comme Staphylococcus aureus
$10^2 - 10^5$	10^4	
$10^4 - 10^6$	10^5	
$0 - 10^4$	50	
$10^4 - 10^7$	10^5	
$0 - 10^2$	10	
$10^2 - 10^6$	4×10^4	
	3×10^7	
$5 \times 10^2 - 10^5$	2×10^3	
	10^8	
$10^2 - 10^3$	10^3	

II - FLORE DES AUTRES PRELEVEMENTS DIGESTIFS

1) Flore intestinale (tableaux III et IV)

. Numération globale

Dans le duodéno-jéjunum, elle varie, selon les auteurs, pour les prélèvements non stériles de 10^2 à 10^4 bactéries par millilitre et même 10^6 dans la muqueuse [Nelson, 1970 (150)]. Dans l'iléon, elle varie autour de 10^5 - 10^6 bactéries par millilitre [Gorbach, 1967 (76 - 77)]. Dans le colon, elle augmente beaucoup et se rapproche de celle des fécès.

Le pourcentage d'échantillon stérile dépend aussi des auteurs, mais il est généralement compris entre 20 et 30 %. Un argument en faveur de la non stérilité de l'intestin est la présence de bactéries parfois nombreuses dans les fragments de biopsies de la muqueuse.

. Composition de la flore intestinale

Dubos en 1963 (51) pensait déjà que la flore anaérobie stricte prédominait ; ceci fut confirmé par Gorbach, 1967 (77), puis Nelson, 1970 (150). La mise en oeuvre des nouvelles techniques d'anaérobiose l'affirma définitivement.

Macy, 1978 (132) a trouvé que les bactéries anaérobies étaient en nombre, jusqu'à 1000 ou 10 000 fois supérieur aux bactéries aérobies ou anaérobies facultatives.

Les principales bactéries anaérobies strictes appartiennent aux genres Bacteroides et Veillonella.

Les principales bactéries aérobies ou anaérobies facultatives sont : Escherichia coli et les Streptocoques. Dans le colon, les entérobactéries sont les principales bactéries aérobies.

. Les Micrococcaceae dans l'intestin

Ils sont présents dans 10 à 20 % des prélèvements. Les Staphylocoques coagulase négatifs et les Microcoques prédominent par rapport aux Staphylococcus aureus.

. Facteurs de variation

Si la flore intestinale varie peu chez un même sujet, elle varie beaucoup d'un sujet à l'autre. Un facteur important et très étudié, est

Tableau III

FLORE DUODENOJEJUNALE

Auteurs (référence)	Année	Nombre de prélè- vements	Pourcen- tage de prélève- ments stériles	Numération globale (par ml)	Nombre de souches isolées
CREGAN (34)	1953	28	79		16
MAINGUET (134)	1960	23	4		
GOLDSTEIN (72)	1962	33	(> 0)	3×10^4	
BORNSIDE (18)	1966	25	20	10^3	
KALSER (109)	1966	29	33		
PLAUT (171)	1967	13	38		92
GORBACH (76 -77)	1967	43	16	10^2	
VACHON (199)	1968	103	39		
LEVRAT (128)	1969	27	33	10^4	16
DRASAR (50)	1969	25	68	10^2	11
NELSON (150)	1970	7	43 *	$10^4 - 10^6$	13
BERGOGNE- BEREZIN (14)	1973	107	20		253
		52	21		46
DICKMAN (44)	1976	22	19	10^2	
		7	0	10^4	
AXELSON (3)	1977	36			
MACY (132)	1978	11	18	10^4	

* Prélèvement stérile si $< 10^4$ germes/ml

DE L'ADULTE

Germes aérobies dominants	Micrococcaceae		Mode de prélèvement
	Nombre de souches isolées (numération)	% de prélève- ments ayant des Micrococ- caceae	
Streptocoques	0	0	per opératoire à l'aiguille
	3 S.aureus 5 S.non pathogenes	13 22	tubage fermé
Streptocoques			
Streptocoques			per opératoire à l'aiguille
Aerobacter			tubage ouvert + capsule de SHINER
Streptocoques Lactobacilles	1	8	Biopsies
Streptocoques (viridans)	rare		tubage ouvert
	5 S.aureus 15 S.blancs	5 15	tubage fermé
Streptocoques	0	0	tubage fermé
	1 Staphylocoque (10 ² /ml)	4	tubage ouvert + tube de SHINER + tube à transit rapide
Streptocoques	1 Staphylocoque (10 ⁵ /ml)	14	biopsies chirur- gicales
E. coli Streptocoques	12 S.aureus 18 S.non pathogenes ou Microcoques	11 17	intubation
Staphylocoques E. coli	2 S.aureus 7 S.non pathogenes ou Microcoques	4 13	Biopsies
	4 (10/ml)	18	tubage à jeun
	6 (10 ² /ml)	86	tubage 30 minutes après un repas
	3 S.albus (10 ³ /ml)	8	tubage ouvert
Haemophilus E. coli	2 Microcoques (20/ml)	18	tubage ouvert

Tableau IV

FLORE ILEOCOLIQUE

Flore iléale

Auteurs (référence)	Année	Nombre de prélève- ments	% de prélève- ments stériles	Numération globale (par ml ou par g)	Nombre de souches isolées
NICHOLS (151)	1940	8			
CREGAN (34)	1953	14	50		22
GOLDSTEIN (72)	1962	2	100		
BORNSIDE (18)	1966	25	28	10^3	
KALSER (109)	1966	8	0		
GORBACH (76 - 77)	1967	18	6	$10^5 - 10^6$	

Flore colique

SEELIGER (181)	1963	11	0	10^8	
KALSER (109)	1966	30	0		
NELSON (150)	1970	7	0	$\geq 10^6$	44
		6	0	$\geq 10^7$	44

DE L'ADULTE

Germe aérobie dominant	Micrococcaceae		Mode de prélèvement
	Nombre de souches isolées (numération)	% de prélève- ments ayant des micrococ- caceae	
	3 S.aureus 4 S.albus	38 50	tubage fermé
Streptocoques	1 S.aureus	7	per opératoire à l'aiguille
			tubage ouvert
Streptocoques			per opératoire à l'aiguille
Aerobacter			tubage ouvert + capsule de SHINER
Streptocoques	(3 x 10 ³)		tubage ouvert

	2 Micrococcaceae (10 ⁵ - 10 ⁶)	18	appendices
E. coli	(> 10 ³)	15	tubage ouvert + capsule de SHINER
Streptocoques Entérobactéries	3 Microcoques (10 ⁶)		appendices
Streptocoques Entérobactéries	1 Staphylocoque (10 ⁸) 2 Microcoques (10 ⁶)		biopsies coliques

la sécrétion acide de l'estomac : Gianella, 1972 (69) a observé que si le pH de l'estomac devient inférieur à 2,5, il est bactéricide ; s'il est supérieur à 4, il n'a plus d'effet bactéricide.

Dans les achlorhydries, il y a augmentation du nombre de bactéries dans l'intestin grêle [Cregan, 1953 (34)].

D'autres facteurs peuvent entraîner une prolifération bactérienne : un diverticule, une obstruction, une diarrhée : Goldstein, 1962 (72). De nombreux facteurs antibactériens ont été suspectés dans l'intestin pour expliquer le petit nombre d'organismes et la disparition rapide de germes ensemencés expérimentalement dans celui-ci. Mais aucun facteur n'a été véritablement démontré, si ce n'est le péristaltisme, qui provoque une élimination mécanique.

2) Flore microbienne de l'estomac

La notion de stérilité de l'estomac à jeun est assez controversée : si Drasar, 1969 (50) trouve stériles 37 prélèvements sur 42 (les autres ne contenant que des levures), Gorbach, 1967 (77) ne trouve qu'un prélèvement stérile sur 7 ; dans les 6 autres prélèvements, la numération est de 10 à 10^3 germes par millilitre ; Gorbach constate que le prélèvement contient de nombreuses bactéries, même si le pH est inférieur à 2, ce qui est en contradiction avec les résultats de Gianella, 1972 (69).

Nelson, 1970 (150) qui a pratiqué 3 biopsies chirurgicales de la muqueuse gastrique, les a trouvées stériles à l'examen direct et en culture.

III - FLORE VAGINALE DE L'ADULTE (tableau V)

1) Numération globale de la flore

Les prélèvements vaginaux ne sont que rarement stériles : Bartlett, 1977 (12), Levison, 1977 (127), Tashjian, 1976 (195). La plupart du temps, les bactéries sont en nombre important ; Levison : la numération des bactéries de la flore vaginale est de l'ordre de 10^8 bactéries par millilitre ; pour Bartlett, elle se situe autour de 10^9 bactéries par millilitre.

Tableau V

FLORE VAGINALE DE

Auteurs (références)	Année	Nombre de pré- lèvements	% de prélè- vements stériles	Nombre total de souches isolées (nbre moyen de souches par pré- lèvement)
HITE (96)	1947	61		140 (2,3)
		94		280 (3,0)
WALSH (204)	1966	320		
BORDACOVA (17)	1966	123	0	171 (1,4)
		477	0	
HURLEY (100)	1972	280		
CHARFA (27)	1972	232		
GORBACH (74)	1973	30	3	125 (4,2)
NEARY (149)	1973	246	46	
THABAUT (197)	1974	995	12	1999 (2,0)
ELKINS (52)	1974	40		
		35		
OHM (154)	1975	100	0	815 (8,15)
DE LOUVOIS (41)	1975	280	1	1159 (4,1)
TASHJIAN (195)	1976	100	0	610 (6,1)
GOPLERUD (73)	1976	254		
PFAU (163)	1977	100	29	
LEVISON (127)	1977	25	0	
BARTLETT (12)	1977	52	0	345 (6,6)
MOULIN (144)	1978	280	7	606 (2,2)

NP : non précisé

L'ADULTE

Germes aérobies dominants	Micrococcaceae		Population étudiée
	Nombre de souches isolées (numération)	% de prélève- ments ayant des micrococcaceae	
Lactobacilles	21 S. albus	34	sujets sains
Corynébactéries	4 S. aureus	6	
S. albus	36 S. albus	38	vaginites dont 73 à Trichomonas
Streptocoques	6 S. aureus	6	
Lactobacilles Streptocoques E. coli		6	femmes enceintes
Lactobacilles S. epidermidis	41 S. epidermidis	33	sujets sains
S. epidermidis	207 S. epidermidis	43	infection vaginale
Lactobacilles	18 S. aureus	4	
Corynébactéries	185 S. epidermidis	66	femmes enceintes
Lactobacilles	13 S. aureus	5	
	90 S. aureus	39	femmes atteintes de gonococcie
	30 S. coagulase -	13	
Lactobacilles S. epidermidis	17 S. epidermidis	57	sujets sains
Coliformes	peu de Staphylocoques	non précisé	prélèvements pré-opératoires
Lactobacilles	329 S. epidermidis	33	divers
Corynébactéries	37 S. aureus	4	
	146 Microcoques	15	
S. aureus	S. aureus	50	sujets sains
Lactobacilles	S. albus	45	
Lactobacilles	S. aureus	37	antécédents d'in- fection urinaire
S. aureus	S. albus	30	
Lactobacilles Corynébactéries	41 S. epidermidis	41	avant hystérecto- mie (cause bénigne)
Corynébactéries	185 S. epidermidis	66	femmes enceintes
Lactobacilles	13 S. aureus	5	
	103 Microcoques	37	
S. epidermidis	94 S. epidermidis	94	sujets sains
Lactobacilles	7 S. aureus	7	
Lactobacilles S. epidermidis	S. epidermidis	39	femmes enceintes et post-partum
Corynébactéries	S. aureus	3	
Lactobacilles	26 S. epidermidis	26	sujets sains (pré-ménopause)
Staphylocoques	1 S. aureus	1	
	4 Microcoques	4	
Lactobacilles Corynébactéries	5 S. epidermidis	20	divers
Lactobacilles	29 S. epidermidis	56	sujets sains
Streptocoques	1 S. aureus	2	
Streptocoques Lactobacilles	7 S. aureus S. epidermidisNP	2,5	divers

2) Composition de la flore vaginale

La flore anaérobie stricte serait en quantité égale ou même supérieure à la flore aérobie :

	Flore aérobie et anaé- robie facultative	Flore anaérobie
Levison, 1977 (127)	$10^{6,9}$ à $10^{8,8}$	$10^{7,9}$ à $10^{8,3}$
Bartlett, 1977 (12)	$10^{8,1}$	$10^{9,1}$

La composition de cette flore est variée, puisque le nombre moyen de souches isolées par prélèvement varie de 4 à 8 suivant les auteurs.

Les principaux germes aérobies sont les Lactobacilles les Corynébactéries et les Staphylocoques coagulase négatifs.

3) Place des Micrococcaceae dans la flore vaginale

Nous avons vu qu'ils tiennent une place importante dans la flore vaginale. Ils sont isolés dans presque la moitié des prélèvements. Les Staphylocoques coagulase négatifs souvent appelés "Staphylococcus epidermidis" ou "albus" sont isolés en moyenne 2 fois plus souvent que les Microcoques [Thabaut, 1974 (197), De Louvois, 1975 (41)] alors que les Staphylococcus aureus sont beaucoup plus rares (1 à 5 % des prélèvements).

La numération des Micrococcaceae varie beaucoup suivant les auteurs : Pfau, 1977 (163) trouve de 10^2 à 10^4 /ml, Levison, 1977 (127): $10^{5,6}$ /ml et Bartlett, 1977 (12) : $10^{7,5}$ /g.

4) Facteurs de variation

Le principal facteur physiologique est l'activité génitale. Mme MOULIN, 1978 (144) : le Lactobacille est le germe prédominant pendant la période d'activité génitale, car la muqueuse contient du glycogène ; en dehors de cette période, le glycogène disparaît et le Lactobacille diminue en nombre. La flore est alors très polymorphe. Neary, 1973 (149) a montré que le nombre absolu d'organismes augmente juste après la menstruation.

IV - FLORE DES VOIES AERIENNES (ET DIGESTIVES SUPERIEURES) DE L'ADULTE

1) Flore oropharyngée

a) Numération globale de la flore

. Dans la salive

Burnett, 1968 (25), faisant une revue de la littérature, trouve entre $4,3 \times 10^7$ et $5,5 \times 10^9$ germes/ml de salive, avec une moyenne autour de $7,5 \times 10^8$ germes/ml.

. Dans les autres prélèvements oropharyngés, il trouve que la concentration des germes dans le sillon gingival et la plaque dentaire approche 2×10^{11} germes par gramme de prélèvement.

Socransky, 1963 (190) trouve à l'examen microscopique direct : $1,7 \times 10^{11}$ germes/g et en culture : $5,6 \times 10^{10}$ germes/g.

b) Composition de la flore de l'oropharynx

. Dans la salive

Burnett, 1968 (25) : dans la salive, la moitié, au moins, des germes sont anaérobies stricts. Decelle, 1976 (39) dans des lavages de gorge trouve que les bactéries anaérobies strictes sont en nombre 10 fois inférieur aux aérobies ($10^{5,4}$ contre $10^{6,4}$ bactéries/ml).

Les principales bactéries anaérobies strictes sont des Streptococcus, des Veillonella et des Bacteroides.

Les principales bactéries aérobies appartiennent aux genres Streptococcus, Neisseria et Staphylococcus.

. Dans les autres prélèvements oropharyngés :

- La flore linguale est à peu près identique à celle isolée de la salive, avec prédominance des Streptocoques [Hardie, 1974 (88), Boulay, 1973 (19)].

- Dans le sillon gingival et la plaque dentaire, on ne rencontre que très peu de germes aérobies ; les principales bactéries sont des Streptocoques anaérobies.

Tableau VI

FLORE OROPHARYNGEE

Auteurs (références)	Année	Nombre de prélèvements	Mode de prélèvement
LEES (122)	1959	14	salive
		28	salive
LAURENZI (119)	1961	10	gorge
HANDELMAN (87)	1965		salive
BURNETT (25)	1968		dos de la langue
DRASAR (50)	1969	132	salive
LAZAR (120)	1969	348	pharynx
WEBB (206)	1971	138	gorge
JORDAN (105)	1973	11	salive
		12	salive
BOULAY (19)	1973	30	salive
		100	salive
DECELLE (39)	1976	33	gorge (lavage)

DE L'ADULTE

Micrococcaceae	% de prélèvements contenant des micrococcaceae	Nbre de micrococcaceae par rapport à l'ensemble des germes	population étudiée
5 Staphylocoques coagulase +	35		sujets sains
3 Staphylocoques coagulase +	11		bronchite chronique
2 Staphylocoques coagulase +	20		sujets sains
5000 Micrococcaceae/ml dont la moitié de S. aureus		0,005 %	
	≈ 100	2 %	revue de la littérature
Numération moyenne : 10 Micrococcaceae/ml	11,3		sujets à jeun
56 Staphylocoques, dits "pathogènes", dont 48 dorés et 8 blancs. Sur 28 souches dont 1 blanche, 7 sont coagulase -	16		sujets sains
25 S. aureus 9 S. albus 85 Microcoques	18 7 62		Adultes et enfants
1 S. aureus 6 S. epidermidis 3 Microcoques	9 55 27		sujets sains
0 S. aureus 4 S. epidermidis 9 Microcoques	0 33 75		bronchite chronique
S. aureus S. albus Microcoques	<1 <1 5		sujets sains
19 S. aureus 6 Staphylocoques coagulase -	19 6		sujets témoins hospitalisés
Numération moyenne : 10 ³ Micrococcaceae/ml	90,9 %		sujets sains

c) Place des Micrococcaceae dans la flore oropharyngée

Ils sont retrouvés assez fréquemment dans la salive. Les Staphylocoques coagulase négatifs et les Microcoques prédominent chez les sujets sains non hospitalisés, mais les Staphylococcus aureus peuvent le devenir, chez des sujets hospitalisés [Boulay, 1973 (19)]. Dans la salive, la numération des Micrococcaceae est de l'ordre de 10^3 /ml [Handelman, 1965 (87), Decelle, 1976 (39)].

2) Flore des voies aériennes inférieures (VAI) sous glottiques

a) Numération globale de la flore des VAI

Les voies aériennes sous glottiques sont habituellement stériles (ou ne contiennent que très peu de germes) chez les sujets sains. Ces constatations anciennes ont été confirmées par des travaux plus récents : Lees, 1959 (22), Pecora, 1963 (158), Kalinske, 1967 (107), Potter, 1968 (172) et Wanner, 1973 (205).

Les résultats d'endoscopie bronchique contiennent parfois des bactéries, mais en nombre réduit : pour Okinaka, 1967 (155) entre 0 et 3000 germes/ml. Enjalbert analysant les résultats de 1114 prélèvements endoscopiques d'origines variées, en 14 ans, trouve que ceux-ci sont stériles 330 fois (30 %), ou ont permis l'isolement d'un germe dans 31 % des cas, de 2 germes dans 22 % des cas et de 3 germes dans 18 % des cas.

En comparaison avec ces techniques de prélèvement direct des sécrétions pulmonaires, l'étude des expectorations, même obtenues par la méthode des crachats lavés, ou prises dans le groupe 5 de Murray (147) a une valeur nettement inférieure ; elles ne sont pratiquement jamais stériles, et le nombre d'espèces différentes isolées et souvent important (supérieur à 10).

b) Composition de la flore des VAI

Malgré le petit nombre d'études sur la flore anaérobie des VAI, il semble qu'elle soit moins importante que la flore aérobie.

Jordan en 1976 (105) a isolé de 38 prélèvements, 127 bactéries aérobies contre 72 anaérobies strictes, en utilisant des jarres.

Tableau VII A

FLORE DES EXPECTORATIONS

	GERNEZ- RIEUX (68)	PECORA (159)	LEES (22)		LAURENZI (119)	MURRAY (147)	LE LIRZIN (123)
Année	1952	1958	1959		1961	1975	1976
Nombre de prélèvements	100	78	14	28	10	382	1766
Pourcentage de prélèvements stériles	0	0			0		
S. aureus (Pourcentage de prélèvements positifs pour S. aureus)	9 (9%)		0	2 (7%)	2 (20%)	(14%)	131 (7%)
Staphylocoques coagulase négatifs et Microcoques (Pourcentage de prélève- ments positifs)	17 S. coagu- lase - (17%) 27 Microco- ques (27%)		NP	NP	NP	(63%)	NP
Population étudiée	Suppurations bronchiques		sujets sains	bron- chite chroni- que		sujets hospi- talisés	Divers

NP : non précisé

Les pourcentages sont rapportés au nombre total de prélèvements

Tableau VII B

FLORE DES

Auteurs références	Année	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements stériles
GERNEZ- RIEUX (68)	1952	515	23
		27	100
		23	30
PECORA (159)	1958	87	34
		90	93
LEES (22)	1959	14	100
		28	
LAURENZI (119)	1961	10	
PECORA (158)	1963	44	80
		44	55
KALINSKE (107)	1967	13	100
OKINAKA (155)	1967	100	3
POTTER (172)	1968	42	100
ENJALBERT (55)	1970	1114	30
WANNER (205)	1973	8	75
JORDAN (105)	1973	11	
		27	
		15	
MURRAY (147)	1975	47	
BARTLETT (11)	1976	16	
		7	14
		7	0

ATT : aspiration transtrachéale

NP : non précisē

SECRECTIONS PULMONAIRES

Mode de prélèvement	<u>S. aureus</u> (Pourcentage de prélèvements positifs)	S. coagulase et Mi- crocoques (Pourcentage de pré- lèvements positifs)	Population étudiée
bronchoscopie	28 (5 %)	NP	Suppurations bronchiques
per opératoire			
ponction transthoracique			
bronchoscopie			
per opératoire			
bronchoscopie	0	NP	sujets sains
bronchoscopie	1 (4 %)	NP	bronchite chronique
bronchoscopie (ou tubage)	2 (20 %)	NP	sujets sains
ATT			malades
bronchoscopie			malades
ATT			sujets sains
lavage bronchique	14 (14 %)	NP	malades pulmonaires
bronchoscopie			sujets sains
endoscopie	142 (13 %)	107 (10 %)	divers
fibroscopie	1 (13 %)	NP	sujets sains
fibroscopie	1 (9 %)	0 S. epidermidis 2 Microcoques (18 %)	sujets sains
fibroscopie	1 (4 %)	9 S. epidermidis(33%) 6 Microcoques (22 %)	bronchite chronique
ATT	0	3.S. epidermidis(20%) 0 Microcoques	bronchite chronique
	(11 %)	(15 %)	sujets hospitalisés
fibroscopie		5 (31 %)	sujets sains
ATT	0	1 (14 %)	malades
fibroscopie	1 (14 %)	4 (57 %)	

Bartlett, 1976 (11) avec des techniques d'anaérobiose plus poussées (chambre anaérobie) a isolé de 16 prélèvements, 59 bactéries aérobies contre 26 anaérobies strictes.

Les principaux germes aérobies sont des germes de l'oropharynx : Streptocoques et Staphylocoques essentiellement.

c) Place des Micrococcaceae dans la flore des VAI

Les Staphylococcus aureus sont présents dans 5 à 10 % des expectorations et dans environ 10 % des autres sécrétions pulmonaires. Les Staphylocoques coagulase négatifs et les Microcoques sont plus fréquents mais sont rarement recherchés dans les expectorations. Dans les autres sécrétions pulmonaires, ils sont isolés dans 15 à 30 % des cas.

V - FLORE DE L'ENFANT ET DU NOURRISSON

1) Flore des exonérations spontanées de l'enfant

a) Composition de la flore

On considère depuis Escherich, 1886 [cité par Feldheim, 1960 (59)] que le méconium est stérile ; ceci a été confirmé par Donaldson, 1964 (46) et Moriamez, 1977 (142). La contamination est surtout proximale, ce qui a été confirmé chez des enfants ayant une obstruction intestinale complète, congénitale (Donaldson).

La flore fécale du nourrisson s'établit en quelques jours (1 semaine environ) ; elle dépend de l'alimentation.

- Chez le nourrisson allaité au sein, il existe une prédominance importante des Bifidobacterium qui représentent 90 à 99 % des microorganismes [Moriamez, 1977 (142)]. Les autres bactéries sont représentées par les Bactéroïdes, les Escherichia coli et les Entérocoques.

- Chez le nourrisson allaité artificiellement, les Bactéroïdes prennent de l'importance et sont presque aussi nombreux que les Bifidobacterium ; les autres bactéries sont plus largement représentées.

Ellis-Pegler, 1975 (54) a montré que le rapport du nombre de bactéries anaérobies sur le nombre de bactéries aérobies, augmente avec l'âge pour se rapprocher de celui de l'adulte.

	Numération des bactéries aérobies (par gramme)	Numération des bactéries anaérobies (par gramme)	Rapport <u>Anaérobies</u> Aérobies
Enfants de 8 jours à 4 mois	$10^{9,8}$	10^{10}	1,6
Enfants de 4 mois à 12 mois	$10^{9,3}$	$10^{10,2}$	7,9
Enfants de 1 an à 2 ans	$10^{8,5}$	$10^{10,2}$	50
Enfants de 2 ans à 8 ans	$10^{8,1}$	$10^{9,9}$	63

b) Place des Micrococcaceae dans la flore fécale de l'enfant et du nourrisson (tableau VIII)

Ils sont isolés beaucoup plus fréquemment dans les selles des enfants et des nourrissons que chez l'adulte. Cette fréquence d'isolement varie entre 75 et 100 %. Les Staphylococcus aureus sont moins fréquents que les autres Micrococcaceae, [Cohen, 1962 (29), et Moriametz, 1977, (142)].

La numération des Micrococcaceae dans les coprocultures d'enfants est nettement supérieure à celle de l'adulte ; elle varie le plus souvent entre 10^5 et 10^7 / g de matière. Leur apparition dans les exonérations des nouveau -nés est très rapide :

Pourcentage d'enfants ayant des Micrococcaceae dans leurs féces au :	1er jour	2ème jour	3ème jour
Feldheim, 1960 (59) sur 36 enfants	47 %	58 %	83 %
Buttiaux, 1949 (26) sur 83 enfants	57 %	71 %	78 %

Tableau VIII

FLORE FECALE DE L'ENFANT ET DU NOURRISSON

Auteurs (références)	Année	Nombre de prélève- ments	Micrococcaceae			Population étudiée
			Nombre de souches isolées	% de prélève- ments conte- nant des Micrococcaceae	Numération (par gramme de matière)	
ESTRADE (57)	1954	422	S.aureus	83		hôpital
		66	64 S.aureus	96		collectivité
		17	8 S.aureus	58		sujets sains
LE NOC (126)	1955	80	75 S.aureus	94		hôpital
		36	25 S.aureus	69		sujets sains
HAENEL (84)	1961			100	2 x 10 ⁷	nourrisson (sein)
				100	2 x 10 ⁵	nourrisson (lait)
COHEN (29)	1962	150	124 S.coagulase - 6 S.aureus	82		orpholinat (4 à 10 ans)
		119	76 S.coagulase - 9 S.aureus	64		hôpital (4 à 10 ans)
		6		7,6	10 ⁷	nourrisson (sein)
MATA (136)	1969	19		100	7 x 10 ⁵	nourrisson (sein)
MITSUOKA (137)	1972	12		50	10 ⁵	nourrisson (lait)
		60		100	8 x 10 ⁶	nourrisson (lait)
		16		94	8 x 10 ⁵	8 jours-4 mois (lait)
ELLIS PEGLER (54)	1975	17		100	10 ^{4,7}	4 mois - 12 mois
		12		92	10 ^{3,7}	1 à 2 ans
		12		75	10 ^{3,5}	2 à 8 ans
MORIAMEZ (142)	1977	14	S.coagulase - (57% des souches de Micrococcaceae) S.aureus (43% des souches de Micrococcaceae)	100	1,4 x 10 ⁶	nourrisson (lait)

2) Flore des autres prélèvements digestifs de l'enfant (tableau IX)

a) Composition

La composition de la flore digestive chez l'enfant est très comparable à celle de l'adulte.

La flore de l'estomac a été beaucoup étudiée : si Anderson, 1958 (2) pense que les prélèvements sont le plus souvent stériles (comme la plupart des auteurs ayant effectué des prélèvements chez l'adulte), à l'inverse Challacombe, 1974 (28) ne retrouve que 8% de prélèvements stériles avec une numération moyenne de $10^{8,4}$ bactéries par ml, et Maffei, 1975 (133) 36 % de prélèvements stériles avec une numération moyenne de 10^6 bactéries/ml.

b) Place des Micrococcaceae dans les prélèvements digestifs de l'enfance

Dans l'intestin, ils sont isolés dans 15 à 25 % des prélèvements et les Staphylocoques coagulase négatifs prédominent par rapport aux Staphylococcus aureus.

Dans l'estomac, les Micrococcaceae sont les germes les plus fréquemment isolés, et atteignent des concentrations de 10^4 à 10^6 /ml.

3) Flore des voies aériennes de l'enfant

A la naissance, l'oropharynx est stérile : Smith, 1950 (189), Mac Carthy, 1965 (131), Hoffman, 1966 (97).

La bouche d'un enfant sur 6 est encore stérile au 2ème jour : Burnett, 1968 (25).

Webb, 1971 (206) a noté que l'incidence de Staphylococcus aureus dans la gorge augmente chez l'enfant de moins de 5 ans, puis diminue à mesure qu'il grandit.

Avant l'apparition des dents, la flore est essentiellement aérobie, puis après l'éruption des dents et l'apparition de conditions favorables, les bactéries anaérobies strictes se développent et deviennent prédominantes.

Challacombe, sur 13 prélèvements de gorge, a isolé 3 Staphylococcus aureus, 9 Staphylocoques coagulase négatifs et 1 Microcoque.

Tableau IX

FLORE DES PRELEVEMENTS

Auteurs	Année	Lieu de prélèvement	Mode de prélèvement	Nombre de prélève- ments
ANDERSON (2)	1958	haut jéjunum	per opératoire	7
		milieu intestin	per opératoire	7
		bas iléon	per opératoire	7
		duodénum	intubation	12
		jéjunum	intubation	12
HIRTZMANN (95)	1963	jéjunum	capsule	2
		milieu iléon	capsule	8
		iléon terminal	capsule	35
		coecum	capsule	7
CHALLACOMBE (28)	1974	estomac	tube ouvert	13
		duodénum	tube ouvert	13
MAFFEI (133)	1975	estomac	tube ouvert	14
		estomac	tube ouvert	14
		estomac	tube ouvert	28
GRACEY (78)	1977	intestin grêle	capsule	10

NP : non précisé

* considéré comme stérile si < 10 germes/ml

DIGESTIFS DE L'ENFANT ET DU NOURRISSON

% de prélè- vements stéri- les	Micrococcaceae			population étudiée
	Nombre de souches isolées	% de prélè- vements con- tenant des Micrococcaceae	Numération moyenne (par ml)	
71	1 S. aureus	14		Enfants hospitalisés sans anomalie digestive
71	1 S. aureus	14		
43	1 S. aureus	14		
25	NP			
0	3 S.coagulase- 1 S. aureus	25 8,3		
0	0	0		Enfants sans maladies digestives
0	2	25	$10^3 - 10^6$	
0	7	20		
0	0	0		
8	4 S. aureus 12 S.coagulase - 2 Microcoques	31 92 15	$10^{6,2}$ 10^5 $10^{3,5}$	Nourrisson sans diarrhée Alimentation par sonde gastrique
54	1 S. aureus 5 S.coagulase-	8 38	$10^{4,5}$ 10^4	
29 *		71	10^4	Nourrisson (sein)
50 *		36	$10^{4,5}$	Nourrisson (lait)
33 *		65	10^5	Nourrisson diarrhée
10	NP			Enfants malnutris

B I B L I O G R A P H I E

2ème partie : RAPPEL BACTERIOLOGIQUE

RAPPEL BACTERIOLOGIQUE

A/ TAXONOMIE

Les Staphylocoques font partie du genre Staphylococcus, qui appartient lui-même à la famille des Micrococcaceae. Ce sont des cocci prenant la coloration de Gram et possédant une catalase.

- Diagnostic de genre

Les Staphylocoques sont facilement différenciés des membres du genre Streptococcus par la présence de la catalase. Mais, il est plus difficile de les différencier des membres du genre Micrococcus car ceux-ci possèdent aussi une catalase. La limite entre ces deux genres a pendant longtemps été assez floue et de nombreux critères ont été utilisés pour les séparer.

Nous étudierons tout d'abord les critères fondamentaux génétiques et biochimiques, qui sont très difficiles à rechercher en pratique courante.

a) Le critère principal repose sur la différence de composition en bases du DNA : en effet, les Staphylocoques ont dans leur DNA une proportion de guanine et de cytosine plus basse ($G + C = 30$ à 36 moles %) que les Microcoques ($G + C = 66$ à 73 moles %) [Schleifer, 1976 (180)].

b) Un autre critère de différenciation est la présence d'hydrocarbures aliphatiques dans les graisses neutres des Microcoques et leur absence chez les Staphylocoques [Kloos et coll., 1970 (198), 1971 (143)].

c) Jeffries, 1969 (102) a trouvé des différences entre les ménaquinones des Staphylocoques et des Microcoques ; chez les Microcoques, elles sont hydrogénées alors que chez les Staphylocoques, elles sont insaturées.

d) Un autre critère de différenciation important est la composition chimique de la paroi cellulaire ; les principaux composants de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives sont : des peptidoglycanes, des polysaccharides et/ou des acides teichoïques et des protéines.

. La composition des peptidoglycanes des Staphylocoques est très différente de celle des Microcoques ; Schleifer, 1972 (177) a montré chez les Staphylocoques la présence de nombreux résidus glycyl, alors que chez la plupart des Microcoques, il n'y a pas de résidus glycyl ; si quelques Microcoques (comme Micrococcus luteus) en possèdent, ils sont en faible quantité et en proportion égale avec des résidus d'acide glutamique (une mole de glycine pour une mole d'acide glutamique).

. La présence d'acides teichoïques dans la paroi cellulaire des Staphylocoques est aussi un critère de différenciation car les Microcoques n'en ont pas [Schleifer, 1976 (180)].

Si la composition en base du DNA et les constituants de la paroi cellulaire sont des critères fondamentaux, en pratique courante, on utilise des tests métaboliques et biologiques.

e) Le plus ancien est le mode d'utilisation du glucose en aérobiose et en anaérobiose. Les Staphylocoques oxydent et fermentent le glucose, alors que les Microcoques ne le fermentent pas, mais peuvent parfois l'oxyder. Ce critère a été recommandé par le Sous Comité de Taxonomie des Staphylocoques et des Microcoques, 1965 (193).

f) Peny et Buisnière, 1970 (160) en testant par microméthode de nombreux caractères métaboliques en retiennent 2 principaux : la DL alanyl-beta-naphtylamide et l'arginine decarboxylase (ADC), ce qui permet de différencier les Staphylocoques des Microcoques selon le schéma suivant :

Genre	DL alanine-beta-naphtylamide	ADC
Staphylocoques	-	+
Microcoques	+	-

g) Evans et Kloos, 1972 (58) ont utilisé un milieu semi-solide au thioglycolate qui permet de différencier les Staphylocoques par leur aptitude à pousser en aéro-anaérobiose en tranches homogènes ou en gradient de croissance, alors que les Microcoques ne poussent que dans la zone aérobie.

h) Curry, 1974 (36) a utilisé un milieu contenant 50 $\mu\text{g/ml}$ de nitrofurane (FTO agar) qui inhibe la croissance des Staphylocoques, mais non celle des Microcoques.

i) Schleifer et Kloos en 1975 (179) ont proposé pour identifier les Staphylocoques un milieu gélosé (purple agar base) contenant 1 % de glycérol et 0,4 $\mu\text{g/ml}$ d'Erythromycine. Les Staphylocoques oxydent ce milieu ainsi que quelques rares souches de Microcoques.

j) Ces auteurs ont donc recherché, pour dépister ces quelques Microcoques oxydant le glycérol en présence d'Erythromycine, la sensibilité à la lysostaphine et au lysozyme [Schleifer, 1975 (179)].

. la lysostaphine agit sur le peptidoglycane des Staphylocoques. Elle provoque sa rupture en 3 points, mais surtout au niveau des pont pentaglycine, grâce à sa fraction endopeptidase. Les Staphylocoques ayant comme nous l'avons vu de nombreux résidus glycyl sont très sensibles à son action alors que les Microcoques sont résistants. Certains Staphylocoques sont légèrement résistants car ils contiennent à côté des résidus glycyl. de la sérine. La teneur en glycine de la paroi des Staphylocoques peut être augmenté en utilisant un milieu riche en glycine (et pauvre en sérine).

. le lysozyme est une muramidase (mucopéptide N-acétyl muramyl hydrolase) qui hydrolyse les chaînes acide N acétylmuramique-N acétyl glucosamine de la paroi. Les Microcoques y sont sensibles alors que les Staphylocoques sont résistants.

- Diagnostic d'espèce

De nombreux auteurs ont essayé de classer le genre *Staphylococcus* en différentes espèces. Le principal critère retenu fut la recherche de la coagulase ; elle permet de différencier l'espèce *Staphylococcus aureus* possédant une coagulase et l'espèce *Staphylococcus epidermidis*

ne possédant pas de coagulase. Ces Staphylocoques coagulase négatifs apparurent rapidement comme un groupe non homogène. Les nombreux essais de classification ont donc porté principalement sur ce groupe.

a) La première classification intéressante fut celle proposée par Baird Parker, 1963 (5) et 1965 (6) qui subdivisa le genre *Staphylococcus* en 6 sous-groupes, 1 sous-groupe coagulase positif et 5 sous-groupes coagulase négatifs.

b) Puis d'autres classifications furent proposées par Bentley, 1967 et Brown, 1967.

c) Baird Parker en 1972 (7), simplifia sa classification en ne subdivisant les Staphylocoques coagulase négatifs qu'en 4 sous-groupes par l'étude de 5 caractères principaux :

Sous-groupes	1	2	3	4
Acétoïne	+	-	+	+
Phosphatase	+	+	-	-
Lactose	+	d	-	d
Maltose	+	-	d	d
Mannitol	-	-	-	+

d) Puis Schleifer et Kloos proposèrent en 1975 (178 -111), à partir d'une étude des Staphylocoques de la peau, une classification des Staphylocoques coagulase négatifs en 9 espèces : *Staphylococcus epidermidis*, *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis* et *S. capitis*. Cette classification était basée sur l'étude de 39 caractères. Puis ne furent retenus que 22 caractères principaux. Un schéma simplifié reposant sur l'étude de 13 caractères fut ensuite proposé (112). Ce schéma directeur est basé sur l'étude de : la coagulase, l'hémolyse, la réduction des nitrates et sur l'étude

de la production d'acide en aérobiose à partir de 10 hydrates de carbone (maltose, D mannitol, D + xylose, L + arabinose, sucrose, D + tréhalose, xylitol, α lactose, β D-fructose et D-ribose).

e) Le Sous Comité de Taxonomie des Staphylocoques, 1975 (194) reconnut trois principales espèces de Staphylocoques : Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, mais classa les autres espèces décrites par Schleifer dans Staphylococcus sp.

	<u>S. aureus</u>	<u>S. epidermidis</u>	<u>S. saprophyticus</u>
Coagulase	+	-	-
Sucrose (saccharose)	+	+	+
Tréhalose	+	-	+
Mannitol	+	-	+
Phosphatase	+	+	-
Novobiocine	S	S	R
Xylose	-	-	-

De plus : S. cohnii est sucrose -
et S. xylosus est xylose +

f) Brun et Fleurette, 1977 (23),reprenant la classification de Schleifer ont testé une microméthode d'identification biochimique. En effet, les tests de Schleifer sont longs à effectuer en routine. Cette méthode utilise des cupules stériles, en matière plastique, remplies de substrats. 80 de ces substrats ont été testés et 19 seulement ont été retenus parmi lesquels tous les substrats retenus par Schleifer et Kloos pour leur classification. Il s'agit de :
D glucose, β D (-) fructose, D (+) mannose, maltose, α lactose, D (+) trehalose, D mannitol, xylitol, D mélibiose, nitrate, 2 naphtyl-phosphate, sodium pyruvate, D raffinose, D(+) xylose, sucrose,

méthylglucoside, N acétyl-glucosamine, arginine monochlorhydrate et urée. Ils obtiennent une bonne corrélation avec les résultats de Schleifer.

B/ SUBSTANCES ELABOREES PAR LES STAPHYLOCOQUES

1) Toxines chez Staphylococcus aureus

- HEMOLYSINES

a) α hémolysine : protéine active sur les hématies de lapin, un peu moins sur celles de mouton et inactive sur les hématies humaines. Elle agit rapidement à 37°C, est thermostable, antigénique et peut être transformée en anatoxine par le formol.

Activité biologique : elle est dermonécrosante et léthale pour le lapin ; elle agit sur la membrane cellulaire.

b) β hémolysine : elle n'est active que sur les hématies de mouton. Elle agit comme une sphingomyélinase, thermolabile et antigénique.

c) δ hémolysine : elle est formée de deux composants distincts de même poids moléculaire δ_1 et δ_2 ; elle agit sur les hématies de lapin, de mouton et d'homme ; elle est antigénique.

d) δ hémolysine : c'est la plus commune des hémolysines ; elle est active sur les hématies humaines et équines. Elle est antigénique. Elle inhibe la réabsorption de l'eau dans l'intestin, ce qui lui ferait peut-être jouer un rôle dans l'entérite staphylococcique [Taylor, 1977 (196)] .

- LEUCOCIDINE

Sur les trois leucocidines qui ont été décrites, seule la leucocidine de Pantou et Valentine est bien individualisée. Elle n'est produite que par les Staphylococcus aureus. Elle est antigénique.

- ENTEROTOXINES

Ce sont des exoprotéines thermostables, insensibles aux sucs digestifs, sécrétées par quelques souches de Staphylococcus aureus seulement. Elles sont responsables d'intoxications alimentaires et d'entérocologie aigüe.

- TOXINE EPIDERMOLYTIQUE ou EXFOLIATINE

Une nouvelle toxine a été mise en évidence ; elle est appelée exfoliatine ou toxine épidermolytique ; c'est une exotoxine protéique responsable en clinique de staphylococcies cutanées bulleuses, et du syndrome de LYELL infectieux.

2) Toxines chez les Staphylocoques coagulase négatifs

La plupart des toxines (à l'exception de la leucocidine de Panton et Valentine) sont aussi sécrétées par les Staphylocoques coagulase négatifs, mais le plus souvent à des taux plus faibles que pour Staphylococcus aureus.

3) Enzymes chez Staphylococcus aureus

Ce sont des enzymes diffusibles dans le milieu extérieur.

- COAGULASE

C'est une enzyme thermostable, sécrétée, par définition, par Staphylococcus aureus, capable de coaguler le plasma de lapin, citraté, oxalaté ou hépariné, en quelques heures. Elle existe sous deux formes :

. la coagulase libre, antigénique, qui joue un rôle important dans le pouvoir pathogène des Staphylocoques bien qu'elle ne soit pas indispensable

. la coagulase liée, fixée au corps bactérien, responsable de l'aggrégation des germes (test sur lame)

- DESOXYRIBONUCLEASE (DNase)

C'est une enzyme qui dépolymérise aussi bien les DNA qu les RNA ; on distingue aussi deux formes.

- . la DNase thermolabile détruite par la chaleur
- . et la DNase thermostable non détruite par l'ébullition au bain-marie pendant 15 minutes.

- HYALURONIDASE

Enzyme thermolabile hydrolysant l'acide hyaluronique, elle jouerait un rôle favorisant la diffusion du Staphylocoque dans le tissu conjonctif.

- FIBRINOLYSINE

C'est une staphylokinase qui est un activateur du plasminogène ; elle est caractéristique des souches d'origine humaine.

- PHOSPHATASES

Il en existe deux, acide et alcaline, que l'on peut rechercher à l'aide d'un substrat synthétique (paranitrophénylphosphate)

- LIPASES

L'attaque des graisses dépend de 3 enzymes au moins : une lipase, une estérase et peut être une phosphatidase.

- AUTRES ENZYMES

Les Staphylocoques sécrètent aussi de nombreuses autres enzymes : caséinase, uréase, gélatinase, glucuronidase...

- LYSOZYME

C'est une enzyme qui lyse les parois de Micrococcus lysodeikticus elle est identique au lysozyme du blanc d'oeuf (N-acétylmuramoyl hydrolase ou E.C. 3.2.1.17).

4) Enzymes chez les Staphylocoques coagulase négatifs

De même que pour les toxines, la plupart des enzymes (à l'exception de la coagulase) sont présentes chez les Staphylocoques coagulase négatifs, mais à des taux bas.

Abramson en 1967 (1) sur 60 souches de Staphylocoques coagulase négatifs a trouvé :

- une protéinase, DNase, fibrinolysine, hyaluronidase positives dans 10 à 20 % des cas,

- une α , β , δ hémolysine, lipase et phosphatase positives dans 50 à 70 % des cas

C/ STRUCTURE ANTIGENIQUE DES STAPHYLOCOQUES

La paroi bactérienne est le support des antigènes. Elle est constituée d'une macromolécule appelée mucoprotéine ou peptidoglycane et d'une longue chaîne d'acides teichoïques. L'étude des composants antigéniques de surface peut être conduite de 2 manières différentes :

- d'une part l'extraction chimique des antigènes avec étude de leurs propriétés immunologiques par des techniques de précipitation ou de neutralisation des agglutinines.

- d'autre part, l'analyse sérologique globale qui met en jeu les germes entiers et leurs anti-sérums.

1) Antigènes d'espèces (correspondant à l'analyse immunochimique)

- Le mucopeptide

Il est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique, réunis par des liaisons β 1-4 et β 1-6. Un tétrapeptide (Ala-Glu-Lys-Ala) est lié au niveau de l'acide N-acétylmuramique. Des ponts pentaglycine réunissent ces peptides; ces ponts peuvent parfois contenir des résidus de sérine, en particulier, chez les espèces coagulase négatives. Le rôle antigénique de ce mucopeptide est faible.

- Les acides teichoïques

Ce sont des polymères linéaires représentant 20 à 50 % du poids de la paroi cellulaire. On en distingue de nombreux types dont les principaux sont :

- a) Les acides ribitol teichoïques, isolés de souches de Staphylococcus aureus, représentés surtout par l'acide N-acétylglucosaminylribitol phosphate teichoïque. Le résidu N-acétyl glucosamine peut être fixé au ribitol par une liaison α ou β .

L'acide ribitol teichoïque β N acétylglycosamine correspond au polysaccharide A de Julianelle et Wieghard, 1935 (106), tandis que l'anomère α correspond au polysaccharide 263. Ces 2 anomères présentent une réactivité sérologiques différente.

b) Les acides glycérol teichoïques, représentés surtout par l'acide α glucosylglycérol teichoïque, isolés de Staphylocoques coagulase négatifs et identifiés par Losnegard et Oeding, 1963 (129). Il est semblable au polysaccharide B de Julianelle (106). Il existe aussi un anomère β qui peut être distingué par des réactions sérologiques. En effet la liaison α ou β agit comme un déterminant de spécificité sérologique.

c) Plus récemment, a été isolé chez une souche de Staphylococcus saprophyticus un acide N acétylglucosaminyl glycérol teichoïque [Johnsen et Oeding, 1975 (104)].

d) Les acides teichoïques sont des antigènes puissants et l'on peut obtenir des antisérums de haut titre si le vaccin est constitué de cellules entières. Ils peuvent être caractérisé par plusieurs techniques sérologiques dont la principale est la précipitation en gel.

- La protéine A

C'est un polypeptide contenant tous les types d'acides aminés de la paroi, isolé en 1958 par Jensen (103), extrait et purifié par Grov, 1967 (79). Elle est spécifique de l'espèce Staphylococcus aureus. Il s'agit d'un précipitogène donnant en immunodiffusion en gel une précipitation avec tous les sérums humains normaux. Mais, il ne s'agit pas d'une réaction de type antigène-anticorps, car elle réagit avec le fragment Fc des immunoglobulines G. L'immunisation avec la protéine A conduit à la production d'immunoglobulines et la réaction se fait alors avec le fragment Fab. La protéine A est aussi un agglutinogène responsable de l'agglutination de Staphylococcus aureus par les sérums humains normaux.

En 1968, Grov (80) a séparé 2 précipitogènes dans sa protéine A brute : la protéine A pure et la protéine B, substances très voisines mais ayant un comportement sérologique différent.

2) Antigènes de types (correspondant à l'analyse sérologique)

Leur structure et leur position n'est pas bien connue. Deux méthodes d'identification (méthodes par agglutination) sont actuellement utilisées.

a) Chez Staphylococcus aureus

- Méthode de Pillet, 1966-1967 (166 - 170)

Le principe de sa méthode consiste à utiliser des souches types servant à immuniser des lapins; les immunsérums sont absorbés et n'agglutinent généralement qu'une seule souche type.

- Méthode d'Oeding, 1952-1957 (152-153)

Les sérums obtenus après immunisation par des souches types sont spécifiques après absorption, non pas d'une souche, mais d'un "facteur sérum" (agglutinogène). Les différents agglutinogènes peuvent être retrouvés sur des souches différentes. La structure chimique de ces agglutinogènes est inconnue sauf pour deux d'entre eux : les agglutinogènes h1 et a5 [Flandrois, 1978, (62)].

- Modjadedy et Fleurette, 1974 (139) ont comparé ces deux méthodes et ont trouvé qu'elles étaient complémentaires. Ils ont proposé de regrouper les souches de Staphylococcus aureus en 8 groupes dont 5 principaux.

b) Chez les Staphylocoques coagulase négatifs

Ils ont surtout été étudiés par Pillet.

Dès 1954 (167), il a montré que les Staphylocoques coagulase négatifs étaient immunogènes ; après absorption, il obtient 2 sérums spécifiques : 52.186 et 52.260, [1970, (168)].

En 1977 (196), il a sérotypé les 9 souches types de Schleifer et Kloos avec ses 2 sérums et 16 autres de S. aureus : S. epidermidis présente l'antigène 52.186, S. haemolyticus, l'antigène 18, S. warneri et S. hominis 6 - 16 - 64.048 - 52.186 et 52.260 ; les autres souches ne sont pas typables. De plus l'antigène thermostable commun 52.186 - 52.260 est présent chez S. epidermidis et S. cohnii tandis que S. haemolyticus présente l'antigène thermostable B et S. hominis

l'antigène thermostable A. Pillet a également préparé des immun-sérums à partir des 9 souches types. Il a obtenu des sérums monovalents à partir des souches de S. hominis, S. cohnii, S. xylosus, S. capitis, S. saprophyticus et S. simulans. Le sérum anti S. epidermidis agglutine aussi la souche 52.186 et faiblement S. warneri et S. hominis. Le sérum anti S. warneri agglutine aussi S. hominis. Le sérum anti S. haemolyticus agglutine aussi la souche 18.

D/ LYSOTYPIE

La lysotypie par des bactériophages est une méthode très fine d'identification. Elle repose sur la lyse par ceux-ci des Staphylocoques ; cette lyse est spécifique de type. Actuellement, on utilise encore les règles précisées en 1945 par Wilson et Atkinson (208). Les bactériophages des Staphylococcus aureus appartiennent à une série internationale et sont regroupés en 4 groupes.

Les Staphylocoques coagulase négatifs ne sont habituellement pas sensibles aux phages de la série internationale. Van Boven et al., 1968 (200) ont isolé 18 phages à partir de souches de Staphylocoques coagulase négatifs, lysogènes. Environ 80 % de 300 souches de l'ancien biotype II de Baird Parker étaient lysées par un ou plusieurs phages. Certaines souches de Staphylocoques coagulase négatifs peuvent être lysogènes pour des souches de Staphylococcus aureus.

D'autres phages ont été isolés depuis par Pulverer et Col., 1977 (90), Verhoeff, 1977 (203), et Parisi, 1977 (184).

E/ LYOGROUPES

Satta, 1977 (176) a essayé de typer les Staphylocoques selon leur activité bactériolytique. Cette méthode repose sur un système de 8 milieux contenant des cellules tuées par la chaleur de Micrococcus luteus et autres bactéries comme substrat d'activité lytique. 1000 souches de Staphylocoques ont été divisées en 6 sous-groupes différents, appelés les lyogroupes.

F/ POUVOIR PATHOGENE DES STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS

1) Pouvoir pathogène expérimental

Le lapin est l'animal le plus sensible, mais les souris sont très souvent préférées pour tester le pouvoir pathogène, pour des raisons de commodité.

Des expériences sur le tissu cutané de la souris [James, 1961 (101) et Dauchy, 1970 (38)] ont montré que les Staphylocoques coagulase négatifs ne forment pas de véritables abcès, mais des "tunnels" de pus n'ayant pas tendance à s'étendre et disparaissant en 3 à 5 jours.

L'inoculation intracérébrale ou intrapéritonéale entraîne la mort de la souris en 24 heures ou sa guérison complète.

L'inoculation intraveineuse entraîne sa mort le 1er jour ou vers le 4ème-5ème jour par insuffisance rénale due à des abcès rénaux.

2) Pouvoir pathogène chez l'homme

Longtemps considérés comme commensaux, les Staphylocoques coagulase négatifs se sont récemment révélés être la cause d'infections variées [Brun, 1971 (21)].

Pour affirmer leur rôle pathogène, il faut exiger certains critères : [Fleurette et coll. (65)] localisation infectieuse caractérisée, aseptie stricte lors du prélèvement, présence bactérienne constatée à plusieurs reprises dans le même type de prélèvement, identité des souches, absence d'autre espèce bactérienne.

Les Staphylocoques coagulase négatifs peuvent être responsables de septicémies, endocardites, méningites, infections urinaires, conjonctivites, suppurations cutanées et muqueuses. Ces infections surviennent souvent chez des patients présentant des conditions favorisantes : terrain taré, malade réanimé, infections iatrogènes au contact d'un corps étranger...

G/ RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Les Staphylocoques sont des bactéries qui acquièrent rapidement des résistances aux antibiotiques ce qui explique qu'il soit très difficile de donner des fréquences de résistance, et ce, d'autant plus qu'elles varient beaucoup suivant les régions.

Fleurette, 1977 (63) trouve sur 948 souches de Staphylocoques coagulase négatifs en 1976, des fréquences de résistance suivantes :

Pénicilline G	67 %
Méthicilline	43 %
Céphalotine	5 %
Néomycine	24 %
Kanamycine	41 %
Gentamicine	13 %
Tobramycine	16 %
Chloramphénicol	41 %
Tétracycline	74 %
Minocycline	1 %
Erythromycine	47 %
Pristinamycine	1 %
A. fusidique	6 %
Rifampicine	5 %
Sulfatriméthoprine	71 %

Les antibiotiques antistaphylococciques actuellement les plus efficaces sont les céphalosporines, la Pristinamycine, la Rifampicine, la Minocycline et parmi les aminosides : Gentamicine, Tobramycine et surtout Amikacine.

La principale cause de résistance des Staphylocoques aux antibiotiques est de nature plasmidique. Nous insisterons particulièrement sur les nouvelles résistances plasmidiques décrites par Soussy, 1977 (191) : il s'agit de 2 nouveaux types de résistance aux aminosides : GKTo (Gentamicine, Kanamycine, Tobramycine, Sisomycine et Amikacine) assez fréquent et KTo plus rare (Kanamycine, Tobramycine, Lividomycine, Néomycine, Amikacine), ainsi que résistance aux streptogramines intéressant les 2 composants du produit, parfois associée à une résistance aux macrolides.

T R A V A I L P E R S O N N E L

1ère partie : MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

I - LA POPULATION ETUDIEE

Nous avons étudié 2 populations différentes

- une population de sujets "normaux"
- et une population de sujets hospitalisés.

1) La population de sujets normaux

Elle est composée de 53 hommes travaillant dans des cuisines de régiments, bases aériennes, ou gendarmeries, de la région Rhône-Alpes, et se présentant au laboratoire de Biologie de l'Hôpital d'Instruction des Armées (HIA) Desgenettes pour un contrôle bactériologique et parasitologique, systématique des selles.

Nous avons pratiqué chez ces sujets un examen sommaire pour éliminer ceux qui n'étaient pas en bonne santé et surtout ceux qui avaient reçu une antibiothérapie au cours des 2 derniers mois.

2) La population de sujets hospitalisés

Elle est composée de 190 hommes ou femmes, âgés*de 18 ans à 67 ans (moyenne d'âge*: 32 ans) et hospitalisés dans les différents services lyonnais suivants :

- Un service de pneumologie de l'Hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique Louis Pradel (33 malades)
- Des services de Pédiatrie, Urologie, Réanimation et différents services d'adultes de l'Hôpital Edouard Herriot (74 malades)
- Les différents services de l'HIA Desgenettes (83 malades)

II - LES PRELEVEMENTS

1) Les éxonérations spontanées

Elles sont recueillies le matin de bonne heure au réveil pour les sujets hospitalisés.

Pour les sujets sains, elles sont recueillies au cours de la matinée.

* enfants exceptés

Le recueil est effectué dans des petits pots en plastique stériles, prévus pour les coprocultures. Les exonérations d'adultes proviennent de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique et de l'HIA Desgenettes. Les selles d'enfants et de nouveau-nés proviennent de l'hôpital Edouard Herriot.

Nous avons recueillis 130 exonérations spontanées :

- 39 provenaient de sujets sains
- 13 provenaient de malades de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique
- 34 provenaient de malades de l'HIA Desgenettes
- 29 provenaient d'enfants de l'hôpital Edouard Herriot
- 15 provenaient de nouveau-nés de moins de 7 jours de l'hôpital Edouard Herriot

Les sujets hospitalisés ne présentaient pas de maladie digestive pouvant entraîner une quelconque anomalie des fécès.

2) Les autres prélèvements digestifs

Nous n'avons recueilli que 2 liquides d'aspiration duodénale ; il s'agissait de 2 sujets ayant eu une fibroscopie oesogastroduodénale pour ulcère de l'estomac.

Nous avons aussi recueilli 2 prélèvements per opératoires du duodénum ; un des malades était atteint d'un néoplasme gastrique peu étendu, et l'autre venait de subir une cholecystectomie pour lithiase.

3) Les expectorations

Les expectorations de malades hospitalisés proviennent de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique et de l'HIA Desgenettes.

Ces expectorations sont :

- soit demandées par nos soins,
- soit envoyées pour recherche de bacille de Koch ou de cellule néoplasique (avec absence de bacille ou de cellule).

Ces expectorations qui proviennent de sujets n'ayant pas d'antécédents pulmonaires patents, sont parfois difficiles à obtenir ;

ceci explique qu'elles contiennent souvent une part non négligeable de salive. Nous n'avons pas utilisé de technique (telle que le lavage des crachats) pour essayer de limiter la contamination salivaire.

Nous avons recueillis :

- 14 expectorations de sujets sains
- 14 expectorations de malades de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique
- 47 expectorations de malades de l'HIA Desgenettes

4) Autres prélèvements trachéobronchiques

. Endoscopie (ou lavage bronchique)

Les prélèvements endoscopiques ont été recueillis à l'aide d'un fibroscope souple. Ces prélèvements ont été obtenus :

- soit par aspiration directe
- soit par lavage bronchique

Nous avons recueillis 6 prélèvements, 5 provenant de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique et 1 de l'HIA Desgenettes.

. Intubation trachéale par un tube fermé

Ces prélèvements trachéaux, dits "protégés" ont été effectués selon une technique mise au point par le Professeur MOTIN : on intube les malades avec un tube en plastique, stérile, fermé à son extrémité distale par une membrane et contenant un fin catheter stérile. Au niveau du lieu de prélèvement, on perfore la membrane par injection d'air ou d'eau, puis on pousse le fin catheter de manière à le faire dépasser du tube de quelques centimètres. On aspire alors, par le catheter, soit directement les sécrétions trachéobronchiques, soit l'eau injectée pour rompre la membrane. Ces sujets, hospitalisés dans les services de réanimation de l'hôpital Edouard Herriot et de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique présentaient un contexte infectieux pulmonaire patent, justifiant une telle intubation. Les cultures sont effectuées par les services de Bactériologie de ces 2 hôpitaux, qui nous ont aimablement donné les souches de Staphylocoques coagulase négatifs, qu'ils isolaient.

Nous avons recueilli 6 souches :

- 5 de l'hôpital Edouard Herriot
- 1 de l'hôpital Cardiologique

5) Les prélèvements vaginaux

Les Staphylocoques coagulase négatifs ont été isolés par le laboratoire de Bactériologie du pavillon V de l'hôpital Edouard Herriot, lors de cultures vaginales de routine *. Les malades proviennent des différents services de cet hôpital.

6) Les ganglions thoraciques ont été prélevés lors d'une intervention chirurgicale pour pneumonectomie.

III - EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

A) Transport

Pour les prélèvements digestifs et respiratoires, nous n'avons pas utilisé de milieu de transport, ni de réfrigération. L'ensemencement a été effectué moins de 5 heures après le recueil de l'échantillon, excepté pour quelques cas de coprocultures d'enfants, où le délai a pu atteindre une trentaine d'heures au réfrigérateur.

B) Milieux de culture

. Premiers milieux utilisés

Nous avons commencé par utiliser des géloses nutritives non sélectives :

- gélose au sang
- gélose au lait

* Nous remercions Madame MOULIN de nous avoir donné ces souches.

- gélose P [Kloos et Schleifer, 1974 ()]

de composition : - Peptone 10 g

- Extrait de levure. 5 g

- NaCl 5 g

- Glucose 1 g

- Gélose 15 g

pour 1 litre d'eau distillée

(autoclavage à 115°C pendant 20 minutes)

Mais, ces géloses ne permettaient pas l'isolement de Staphylocoques, car ceux-ci étaient en nombre trop faible relativement aux autres germes, bacilles Gram négatifs et Streptococcus faecalis surtout.

. Tentative de mise au point d'un milieu sélectif

Nous avons donc testé différents milieux sélectifs :

a) Tout d'abord le milieu hypersalé, au mannitol de Chapman, que nous avons retenu, bien que quelques Staphylocoques coagulase négatifs ne poussent pas sur ce milieu.

b) Puis nous avons testé l'incorporation d'antibiotiques à un milieu non sélectif (gélose P) : colimycine et acide nalidixique.

- nous avons d'abord cherché la concentration minimale inhibitrice (CMI) de ces 2 antibiotiques pour les souches types de Schleifer (tableau XII). Les CMI de l'acide nalidixique sont supérieures ou égales à 25,5 $\mu\text{g/ml}$ et celles de la colimycine supérieures ou égales à 64 $\mu\text{g/ml}$.

- nous avons donc retenu pour nos milieux sélectifs des concentrations de 10,8 $\mu\text{g/ml}$ d'acide nalidixique ou de 12,8 $\mu\text{g/ml}$ de colimycine. A ces concentrations, ces 2 antibiotiques inhibent principalement la pousse des Entérobactéries, mais les Streptococcus faecalis sont résistants. L'incorporation d'acide nalidixique à la gélose P, a finalement été préférée, en raison de la plus grande stabilité de sa solution, et nous avons conservé ce milieu pour l'isolement des échantillons prélevés.

Tableau XII

VALEUR DES CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES DES
SOUCHES TYPES DE SCHLEIFER POUR L'ACIDE NALIDIXIQUE

ET LA COLIMYCINE

Espèces		Acide nalidixique	Colimycine
Staphylococcus simulans		25,5	128
Staphylococcus hominis		25,5	128
Staphylococcus cohnii		> 102,4	64
Staphylococcus warneri		25,5	128
Staphylococcus haemolyticus		25,5	64
Staphylococcus capitis		51	64
Staphylococcus xylosus		102,4	128
Staphylococcus saprophyticus		102,4	128
Staphylococcus epidermidis		102,4	> 128
Staphylococcus aureus		102,4	> 128
Témoins	E. coli Monod (CIP)	≤ 3,18	0,5
	Staphylococcus aureus 209 P (CIP)	25,5	> 128

- nous avons aussi testé sur les souches types de Schleifer l'association colimycine-acide nalidixique, à des concentrations respectives de 6,4 + 8 $\mu\text{g/ml}$

6,4 + 16 $\mu\text{g/ml}$

12,8 + 8 $\mu\text{g/ml}$

12,8 + 16 $\mu\text{g/ml}$

(Coli.)(N.A)

Ces associations ont montré dans l'ensemble des résultats semblables ou même une légère sensibilité des Staphylocoques coagulase négatifs à ces associations, et n'ont donc pas été retenues.

c) Pour inhiber la pousse des levures et des moisissures qui envahissaient parfois certaines coprocultures, nous avons essayé d'ajouter du cycloheximide (actidione) au milieu, à la concentration de 1 %; les résultats ont été assez décevants, celui-ci n'empêchant pas l'envahissement de certaines boîtes. Nous l'avons donc abandonné.

d) Le principal germe qui nous a gêné dans nos recherches (en particulier pour les fécès) fut Streptococcus faecalis. Nous avons donc essayé de mettre au point un sérum anti-Streptococcus faecalis. Ce sérum a été préparé de la manière suivante : le vaccin est composé de 9 souches différentes de Streptococcus faecalis, formolées.

4 lapins ont été immunisés :

- 2 par voie intradermique (dont 1 avec adjuvant complet de Freund)

- 2 par voie veineuse.

Le sérum a été dosé par 2 méthodes :

* En agglutination sur lame, le taux est monté jusqu'au 1/1600e pour un lapin immunisé par injection intraveineuse,

* mais par immunoprécipitation en agar, ce même sérum est resté négatif.

Nous avons ensuite testé ce sérum sur les souches vaccinales des Streptococcus faecalis. Nous avons étalé 2 ml de ce sérum (pur, dilué au 1/10e, au 1/50e et au 1/100e) à la pipette coudée sur une boîte de gélose ordinaire avant d'ensemencer les souches par stries ; celui-ci n'a pas empêché la croissance des souches vaccinales.

Le milieu idéal pour l'isolement des Staphylocoques coagulase négatifs reste donc à découvrir.

. Milieus utilisés

Nous avons utilisé pour chaque dilution, 4 boîtes de Pétri :

- 2 boîtes de milieu gélosé, hypersalé de Chapman
- 2 boîtes de gélose P additionnée de 10,8 $\mu\text{g/ml}$ d'acide nalidixique.

C) Ensemencement

. Coprocultures

a) Au début, nous avons pris une quantité pesée de matières fécales (≈ 1 g) pour la diluer dans 10 ml d'eau peptonée ordinaire (EPO), à partir de laquelle nous avons effectué des dilutions de 10 en 10 jusqu'à 10^{-6} dans du sérum physiologique. 0,1 ml de chaque dilution, étaient ensemencés par étalement à l'aide d'une pipette coudée, sur chaque boîte de milieu. Mais, cette technique, longue, qui devait permettre une numération des Staphylocoques a été abandonnée car elle n'a pas donné les résultats escomptés ; en effet, pour que les colonies soient bien séparées, nous étions obligés d'utiliser des dilutions importantes (10^{-4} à 10^{-6}), pour lesquelles ne persistaient plus de Staphylocoques, mais seulement les germes dominants (Streptococcus faecalis surtout, sur la gélose supplémentée par de l'acide nalidixique)

b) Finalement, nous avons pratiqué un isolement en stries, sur chacun des milieux précités à partir des matières non diluées (recherche purement qualitative).

c) Plusieurs essais de préincubation des matières fécales avec de l'eau oxygénée à 10 volumes (10 cm³) pour inhiber la pousse des Streptocoques, ou l'étalement de 1 ou 2 cm³ d'eau oxygénée à la surface des boîtes de gélose P, se sont soldés par des échecs (persistance de Streptocoques ou absence de Staphylocoques). Nous avons aussi essayé d'incorporer de la catalase au milieu car Flowers, 1977 (67) a montré que l'eau oxygénée diminuait beaucoup la numération des germes stressés, mais que l'addition de catalase au milieu, annulait cet effet. Cet essai s'est aussi soldé par un échec.

. Expectorations

Elles ont été diluées, de 10 en 10 dans du sérum physiologique, au début jusqu'à 10^{-4} , puis jusqu'à 10^{-2} , enfin non diluées. Au préalable, si celles-ci étaient très muqueuses, elles étaient traitées par 0,1 ml de solution à 50 mg/ml de chlorhydrate de cystéine, stérilisée par filtration sur membrane en acétate de cellulose, d'une porosité de 0,22 μ m, puis 0,1 ml de produit pur ou dilué étaient étalés à la pipette coudée à la surface des milieux gélosés.

. Les autres prélèvements

a) Pour les prélèvements de vagin, de trachée protégée et de ganglion, les Staphylocoques coagulase négatifs nous étaient remis déjà isolés. Nous ne ferons donc pas état dans nos résultats des fréquences d'isolement des Staphylocoques coagulase négatifs dans ces divers prélèvements.

b) Pour les aspirations bronchiques et duodénales, 0,1 ml du liquide d'aspiration étaient étalés non dilués sur chaque boîte de Pétri.

D) Incubation

Toutes les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48 heures.

E) Identification des Staphylocoques coagulase négatifs

Toutes les colonies ressemblant macroscopiquement à des Staphylocoques sont réisolées sur gélose P. Après une incubation de 24 heures à 37°C, la catalase est recherchée immédiatement ; les colonies catalase positives sont colorées par la méthode de Gram ; la staphylocoagulase est alors recherchée sur les cocci Gram (+), catalase (+), par la méthode en tube, sur du plasma de lapin [Cowan et Steel, 1974 (33)]. Ensuite différents tests sont pratiqués sur les souches coagulase négatives.

. Recherche de la sensibilité à la LYSOSTAPHINE et de la résistance au LYSOZYME

Ce test permet de différencier les Microcoques des Staphylocoques.

a) Préparation de la solution de lysostaphine [Schleifer, 1975 (178)].

La lysostaphine utilisée (lot AZ 1975 - Schwart/Mann Orangeburg, NY) avait une activité spécifique de 237 U/mg. On prépare une solution à 200 µg/ml (1 mg dans 5 ml d'eau distillée) ; il faut solubiliser soigneusement et assez longtemps avant de stériliser par filtration sur membrane en acétate de cellulose d'une porosité de 0,22 µm.

b) Préparation de la solution de lysozyme [Kloos, 1974 (114)].

Le lysozyme utilisé (lot 75C - 8483 - SIGMA) avait une activité spécifique de 46360 U/mg de protéine. On prépare une solution à 400 µg/ml (2 mg dans 5 ml d'eau distillée) que l'on stérilise de la même façon que la lysostaphine.

c) Détermination de la sensibilité à la lysostaphine
On prend un tube contenant 3 ml de gélose P fluide (à 0,75 g% de gélose) fondue auquel on incorpore 0,1 ml d'une suspension bactérienne en sérum physiologique ($\approx 10^7$ germes/ml). On mélange, puis on verse sur une boîte de gélose P solide. On laisse refroidir et on dépose 1 goutte de solution stérile de lysostaphine à 200 µg/ml à la surface de cette boîte. On examine les boîtes après 24 et 48

heures d'incubation à 37°C.

Si la lyse est totale : souche sensible

Si la lyse est subtotale : souche sensible

Si la lyse est absente : souche résistante

Pour déterminer la sensibilité au lysozyme, on effectue de même, avec la solution de lysozyme à 400 µg/ml.

. Identification BIOCHIMIQUE par microméthode standardisée

Chaque souche de Staphylocoque coagulase négatif est subcultivée en vue de l'identification spécifique. On utilise à cette fin une microméthode standardisée (API 20 STAPH) permettant l'étude de 19 caractères. Ces 19 substrats sont décrits dans le tableau XIII. Cette méthode a fait l'objet d'une étude comparée approfondie avec la macrométhode préconisée par Schleifer [Brun, 1978 (23)].

L'indicateur coloré contenu dans les cupules est le rouge de phénol (0,07 % en concentration finale).

L'intensité des réactions est notée selon une échelle conventionnelle de 0 à 5. Seules les réactions d'intensité supérieure ou égale à 3 sont considérées comme positives.

Technique : Les souches sont prélevées sur des boîtes de gélose P incubées 24 heures à 37°C et mises en suspension dans un milieu d'inoculation dont la composition est la suivante :

(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
NaCl	5 g
Extrait de levure	5 g
tampon phosphate M/100	pH 7,8
Base minérale	10 ml
Eau distillée	1000 ml

Ce milieu est stérilisé à 110°C pendant 40 minutes. Les cupules de la plaque biochimique sont ensemencées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis les réactions sont lues 24 et 48 heures après une incubation à 37°C.

Tableau XIII

SUBSTRATS RETENUS POUR L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES
STAPHYLOCOQUES PAR MICROMETHODE

Substrats	Réaction ou enzyme
1/ Contrôle	
2/ D Glucose	Acidification
3/ β D (-) Fructose	"
4/ D (+) Mannose	"
5/ Maltose	"
6/ α Lactose	"
7/ D (+) Trehalose	"
8/ Mannitol	"
9/ Xylitol	"
10/ D Mélibiose	"
11/ Nitrate	
12/ 2 Naphtylphosphate	Phosphatase alcaline
13/ Sodium pyruvate	Production d'acétylméthylcarbinol
14/ D Raffinose	Acidification
15/ D (+) Xylose	"
16/ Sucrose	"
17/ α Methylglucoside	"
18/ N Acétylglucosamine	"
19/ Arginine monochlorhydrate	Arginine dihydrolase
20/ Urée	Uréase

Les réactions d'acidification sont lues directement, avant de révéler les réactions enzymatiques nécessitant l'utilisation de réactifs (nitrate, phosphatase et acétoïne).

Les substrats n° 2 à 16 permettent l'identification des 9 espèces de Schleifer et Kloos, et les substrats n° 17 à 20 peuvent être utilisés pour caractériser d'éventuels biotypes.

• Recherche de la sensibilité aux ANTIBIOTIQUES

a) L'antibiogramme (diffusion en gélose) a été réalisé selon la méthode de Bauer-Kirby

- dilution au 1/100e d'une culture en bouillon coeur-cerveille de 18 heures à 37°C

- ensemencement par inondation de 2 boîtes de milieu gélosé de Mueller Hinton de 14 cm de diamètre, puis les disques (Biomérieux) sont déposés à l'aide d'un distributeur mécanique.

- incubation 18 heures à 37°C

- mesure des diamètres d'inhibition de la culture bactérienne autour de chaque disque

- interprétation de ces diamètres, à l'aide de l'antibiogramme Biomérieux (tableau XIV).

Les antibiotiques testés furent :

Pénicilline G, Oxacilline, Ampicilline, Céphalotine, Néomycine, Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine, Lividomycine, Amikacine, Tétracycline, Doxycycline, Minocycline, Erythromycine, Lincomycine, Clindamycine, Pristinamycine, Rifampicine, Furadoïne, Chloramphénicol, et l'association Triméthoprim-Sulfaméthoxazole.

La charge de chaque disque est indiquée dans le tableau XIV.

b) La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) a été réalisée par la méthode de dilution en gélose. 19 antibiotiques ont été testés : Pénicilline G, Oxacilline, Céphalotine, Néomycine, Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine, Lividomycine, Amikacine, Chloramphénicol, Tétracycline, Doxycycline, Minocycline, Erythromycine, Lincomycine, Clindamycine, Pristinamycine I, Pristinamycine II et Pristinamycine I + II.

Tableau XIV

CHARGE EN ANTIBIOTIQUES DES DISQUES UTILISES POUR L'ANTIBIO-
GRAMME ET DIAMETRE DE LA ZONE D'INHIBITION DES SOUCHES SEN-
SIBLES

	Charge des disques	Diamètre de la zone d'inhibition des sou- ches sensibles (mm)
Pénicilline G	10 U	> 14
Oxacilline	1 µg	> 15
Ampicilline	10 µg	> 16
Céphalotine	30 µg	> 16
Néomycine	30 µg	> 15
Kanamycine	30 µg	> 15
Gentamicine	10 µg	> 15
Tobramycine	10 µg	> 15
Amikacine	10 µg	> 13
Lividomycine	60 µg	> 16
Tétracycline	30 µg	> 23
Doxycycline	30 µg	> 17
Minocycline	30 µg	> 20
Pristinamycine	15 µg	> 15
Erythromycine	15 µg	> 15
Lincomycine	2 µg	> 12
Clindamycine	2 µg	> 12
Chloramphénicol	30 µg	> 15
Rifampicine	30 µg	> 16
Furadoïne	300 µg	> 16
Triméthoprine + Sulfaméthoxazole	1,25 µg + 23,75 µg	> 13

Les solutions mères d'antibiotiques sont à 12 800 $\mu\text{g/ml}$. Elles sont congelées à $- 20^{\circ}\text{C}$ ou dans l'azote liquide, sous un volume de 1 ml. La décongélation a lieu au moment de l'emploi.

La gamme de dilution de chaque antibiotique s'étend de 128 $\mu\text{g/ml}$ à 0,06 $\mu\text{g/ml}$ sauf pour la Tétracycline (où la limite supérieure est de 32 $\mu\text{g/ml}$) et la Minocycline (où elle est de 16 $\mu\text{g/ml}$).

Les antibiotiques sont alors incorporés dans des flacons de milieu gélosé de Mueller Hinton, ramenés à 50°C . Puis le milieu gélosé de Mueller Hinton, contenant chaque dilution d'antibiotiques est coulé en boîtes de Pétri de 14 cm de diamètre.

L'inoculum est constitué par la dilution au 1/100e d'une culture de 18 heures à 37°C en bouillon coeur-cerveille. L'ensemencement se fait à l'aide d'un repiqueur à sites multiples, dérivé du repiqueur de Steers, qui permet de tester 52 souches en même temps.

. Recherche de la DESOXYRIBONUCLEASE (DNase) thermolabile et thermostable

La technique utilisée est dérivée de celle de Lachica, 1971 (116) et récemment modifiée dans le laboratoire par Mme Bornstein. Le milieu de base est le suivant : pour un litre de solution tris à 0,05 M (pH : 9)

- 42 g de milieu DNA (Difco) qui apporte :

- . 2 g DNA
- . 15 g biohycase
- . 5 g soyase
- . 5 g NaCl
- . 15 g de gélose

- 5 g NaCl

- 1 ml de CaCl_2 0,01 M (15 mg pour 10 ml d'eau distillée).

Après ébullition, on ajoute 3 ml de bleu de toluidine 0,1 M (300 mg pour 10 ml d'eau distillée).

Puis on coule ce milieu sur une plaque en plastique (ou en verre) ; une fois la gélose prise, on creuse des puits comme pour une éprouve

d'immunodiffusion. On remplit chaque puits avec un bouillon coeur-cerveille incubé 18 heures à 37°C pour rechercher la DNase thermolabile et avec le même bouillon chauffé au bain-marie bouillant pendant 15 minutes pour la DNase thermostable. La lecture s'effectue après 4 heures d'incubation à 37° et 18 heures à la température du laboratoire. L'activité nucléasique provoque la formation d'un halo rose autour du puits.

. Recherche de l'HEMOLYSE

Le milieu de base est représenté par la gélose P en surfusion à 50°C, à laquelle on ajoute 5 % d'une suspension de globules rouges lavés de lapin, de mouton ou de sang humain.

L'inoculation des souches (à partir d'un bouillon coeur-cerveille de 18 heures dilué au 1/100e) se fait à l'aide du repiqueur à sites multiples. La lecture de l'hémolyse se fait après une incubation de 24 et 48 heures à 37°C sans enrichissement en CO₂ de l'atmosphère.

. Recherche de la PROTEINE A

Nous l'avons recherché selon la technique d'immunoprécipitation en gel.

Le milieu de base est le suivant :

- Agar noble (Difco) 2,4 g dans 50 ml d'eau distillée
- 50 ml de solution de tampon barbital (pH 8,2)

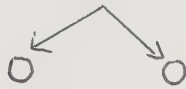
Le tampon barbital (pH 8,2) a la composition suivante :

- ajouter dans 1,5 l d'eau distillée
- 13,38 g de barbital sodique
- 8,83 g d'acétate de sodium, 3H₂O

Puis on ajoute 180 ml d'HCl 0,1 M

On coule 10 ml de gel dans des boîtes pour immunodiffusion, puis on creuse des puits selon le schéma suivant :

Souches à tester



Témoin ○ ○ Ig ○ Témoin



On remplit les puits avec les souches à tester (bouillon coeur-cerveille de 18 heures).

. En conclusion,

L'identification des espèces Staphylocoques coagulase négatifs repose sur l'étude de la morphologie des colonies et de leur pigmentation et sur l'étude de leurs caractères biochimiques.

T R A V A I L P E R S O N N E L

2ème partie : RESULTATS PERSONNELS

RESULTATS

A - REPARTITION DES SOUCHES DE STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS EN FONCTION DES DIFFERENTES ESPECES DE SCHLEIFER ET KLOOS

Sur un total de 218 prélèvements, nous avons isolé une ou plusieurs souches de Staphylocoque coagulase négatif dans 96 cas, soit 44 % (les 26 souches isolées de prélèvements vaginaux et les 6 souches isolées de prélèvements de "trachée protégée" sont exclues du calcul de la fréquence d'isolement).

Le tableau N° XV montre les différents prélèvements effectués et la fréquence des prélèvements ayant permis l'isolement d'une ou plusieurs souches de Staphylocoques coagulase négatifs.

Ces 96 prélèvements positifs ont permis d'isoler 322 souches de Staphylocoques coagulase négatifs, soit une moyenne de 3,35 souches par prélèvement positif.

Le nombre moyen de souches isolées, par prélèvement positif, est de 3,60 souches pour les expectorations et de 3,35 souches pour les coprocultures (2,14 chez l'adulte et 4,09 chez l'enfant).

Le tableau N° XVI montre la répartition des espèces en fonction des catégories de prélèvements.

354 souches de Staphylocoques coagulase négatifs ont été isolées et sont réparties en :

- 264 Staphylococcus epidermidis (soit 74,58 %)
- 33 souches non classées (soit 9,32 %)
- et 57 autres espèces confondues (soit 16,10 %)

Le tableau XVII montre la répartition des espèces en fonction de l'origine des prélèvements et le tableau XVIII en fonction de l'origine des sujets. Les fréquences des différentes espèces sont très stables, quel que soit le type de prélèvement.

B - IDENTIFICATION DES ESPECES DE STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS

L'identification biochimique par microgalerie des souches types de Schleifer et Kloos est résumée dans le tableau XIX.

1) Staphylococcus epidermidis (et souches apparentées)

Parmi les souches isolées, nous avons essayé de caractériser

Tableau XV

TABEAU DES DIFFERENTS PRELEVEMENTS EFFECTUES

	Sujets sains			Hôpital Cardiologique			HIA Desgenettes			Hôpital E. Herriot			Total					
	N	No	%	N	No	%	N	No	%	N	No	%	N	No	%			
Coprocultures	39	2	5,13	13	5	38,5	34	7	20,6	29	17	58,6	15	6	40	130	37	28,5
Expectorations	14	9	69,3	14	11	78,6	47	32	68				75	52	69,3			
Aspirations bronchiques				5	2	40	1	0				6	2	33,3				
Prélèvements ganglionnaires				2	2							2	2					
Aspiration duodénale							2	1				2	1					
Prélèvement duodéal per-opératoire							2	1				2	1					
Lait maternel				1	1							1	1					
Prélèvements de "trachée protégée"				1						5				6				
Prélèvements vaginaux										26				26				
Nombre total de prélèvements	53			36			86			75				250				

$$N = \text{nombre de prélèvements} \quad \text{No} = \text{Nombre de prélèvements positifs} \quad \% = \frac{\text{No}}{N} \times 100$$

Tableau XVI

REPARTITION DES ESPECES EN FONCTION DE L'ORIGINE DES PRELEVEMENTS ET DES SUJETS

Origine des sujets	Expectoration			Coprocultures						Vagin		Divers	Total
	Sujets sains	Hop. Cardio- logique	HIA Desge- nettes	Sujets sains	Hop. Cardio- logique	HIA Desge- nettes	Hop. E.Her- riot n.nés	Hop. E.Her- riot nourris.	Hop. E. Herriot				
Nombre de prélève- ments positifs	9	11	32	2	5	7	6	17					
S. epidermidis	18	42	83	4	8	4	12	66	16		11		264
S. haemolyticus	3		2		1	1		3					10
S. hominis	5		6		1	3		1	3		2		21
S. warneri	1		1			1			1				4
S. capitis	1		4	1		2							8
S. simulans	1							1					2
S. saprophyticus			1										1
S. cohnii	1		1				3				1		6
S. xylosus		1	2			1		1					5
Inclassables	5	2	7		2	1	3	4	6		3		33
Total	35	45	107	5	12	13	18	76	26		17		354
Nombre moyen de souches isolées par prélèvement positif	3,89	4,09	3,34	2,5	2,4	1,86	3	4,47					

Les souches apparentées à chaque espèce sont répertoriées avec celles-ci (voir texte)

Tableau XVII

REPARTITION DES ESPECES EN FONCTION DE L'ORIGINE DES
PRELEVEMENTS

	Coprocultures		Expectorations		Vagin		Divers
	N	%	N	%	N	%	
<i>S. epidermidis</i>	94	75,8	143	76,5	16	61,5	11
<i>S. haemolyticus</i>	5	4,0	5	2,7			
<i>S. hominis</i>	5	4,0	11	5,9	3	11,5	1
<i>S. warneri</i>	1	0,8	2	1,1	1	3,8	
<i>S. capitis</i>	3	2,4	5	2,7			
<i>S. simulans</i>	1	0,8	1	0,5			
<i>S. saprophyticus</i>	0	0	1	0,5			
<i>S. cohnii</i>	3	2,4	2	1,1			
<i>S. xylosus</i>	2	1,6	3	1,6			
Inclassables	10	8,1	14	7,5	6	23,1	3
Total	124	100	187	100	26	100	16

N : nombre d'espèces isolées

% par rapport au nombre de souches isolées dans chaque catégorie de
prélèvement

Tableau XVIII

REPARTITION DES ESPECES EN FONCTION DE L'ORIGINE DES SUJETS

	Sujets sains		Hôpital Cardiologique		HIA Desgenettes	
	N	%	N	%	N	%
<i>S. epidermidis</i>	22	55	50	87,8	87	72,5
<i>S. haemolyticus</i>	3	7,5	1	1,8	3	2,5
<i>S. hominis</i>	5	12,5	1	1,8	9	7,5
<i>S. warneri</i>	1	2,5			2	1,7
<i>S. capitis</i>	2	5			6	5
<i>S. simulans</i>	1	2,5				
<i>S. saprophyticus</i>					1	0,8
<i>S. cohnii</i>	1	2,5			1	0,8
<i>S. xylosus</i>			1	1,8	3	2,5
Inclassables	5	12,5	4	7,0	8	6,7
Total	40	100	57	100	120	100

N : nombre d'espèces isolées

% par rapport au nombre de souches isolées dans chaque catégorie de sujets

Tableau XIX

IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE PAR MICROMETHODE DES SOUCHES-TYPES
DE SCHLEIFER ET KLOOS

	S. epidermidis	S. haemolyticus	S. hominis	S. warneri	S. capitis	S. simulans	S. saprophy- ticus	S. cohnii	S. xylosus
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Maltose	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Lactose	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Tréhalose	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mélibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Phosphatase alcaline	+	-	-	-	-	+	-	+	+
Acétoïne	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Saccharose	+	+	+	+	-	+	+	-	+
Méthylglucoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N. acétyl glucosamine	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Arginine	+	+	-	+	+	-	-	-	-
Urée	+	-	+	+	-	+	+	-	+

plusieurs groupes par la réponse à 4 réactions biochimiques secondaires, de la microgalerie : l'utilisation du méthylglucoside (MG) et de la N-acetyl glucosamine (NAG), la présence d'une arginine dihydrolase (ADH) et d'une uréase.

260 souches de Staphylococcus epidermidis ont été classées en 11 groupes.

* 101 souches sont MG - NAG - ADH + Urée + comme la souche type de Schleifer

Parmi ces souches : 55 souche identiques à la souche type

- 7 sont acétoïne -
- 5 sont nitrate -
- 4 sont phosphatase -
- 20 sont lactose -
- 4 sont lactose - et acétoïne -
- 3 sont lactose - et nitrate -
- 1 est lactose - et phosphatase -
- 1 est nitrate - et phosphatase -
- 1 est phosphatase - et acétoïne -

* 97 souches sont MG - NAG - ADH - Urée + dont 20 souches ne diffèrent de la souche type que par l'absence d'une ADH ;

- 4 souches sont acétoïne -
- 47 sont nitrate -
- 4 sont lactose -
- 3 sont phosphatase -
- 7 sont nitrate - et acétoïne -
- 9 sont lactose - et nitrate -
- 2 sont phosphatase - et acétoïne -
- et 1 souche maltose - lactose - acétoïne - phosphatase -, qui est apparentée à l'espèce Staphylococcus epidermidis

* 5 souches sont MG + NAG - ADH + Urée +

4 souches ne diffèrent de la souche type que par l'utilisation du méthylglucoside (MG)

et 1 souche est acétoïne -

* 7 souches sont MG - NAG + ADH + Urée +

5 souches ne diffèrent de la souche type que par l'utilisation de la N-acétyl glucosamine (NAG)

1 souche est lactose -

1 souche est mannose -

* 18 souches sont MG - NAG - ADH + Urée -

9 souche ne diffèrent de la souche type que par l'absence d'uréase.

1 souche est lactose -

5 sont lactose - et nitrate -

1 est lactose - et phosphatase -

et 2 souches apparentées : une est lactose - nitrate -
et acétoïne -

l'autre est lactose -

nitrate - et phosphatase -

* 15 souches sont MG - NAG - ADH - Urée -

2 souches ne diffèrent de la souche type que par l'absence d'ADH et d'Uréase.

6 sont nitrate -

2 sont lactose - et phosphatase -

1 est phosphatase - et nitrate -

1 est phosphatase - et acétoïne -

1 est nitrate - et acétoïne -

2 souches sont apparentées :

1 est nitrate - acétoïne - et lactose -

l'autre est lactose - mannose - et phosphatase -

* 2 souches MG - NAG + ADH + Urée -

1 souche est lactose -

1 souche est nitrate - et phosphatase -

* 8 souches sont MG - NAG + ADH - Urée +

2 souches ne diffèrent de la souche type que par l'utilisation de la N-acétyl glucosamine (NAG) et par l'absence d'ADH.

- 1 souche est acétoïne -
- 1 souche est nitrate -
- 4 souches sont lactose -

* 5 souches sont MG + NAG + ADH + Urée +

Les 5 souches ne diffèrent de la souche type que par l'utilisation du Méthylglucoside (MG) et la N-acétyl glucosamine (NAG)

* 1 souche est MG - NAG + ADH - Urée -
elle est nitrate -

* 1 souche est MG + NAG + ADH - Urée +
elle est lactose -

Parmi les 260 souches de Staphylococcus epidermidis (ou apparentées), 102 sont identiques à la souche type (39,23 %).

- 2 sont mannose - (0,77 %)
- 1 est maltose - (0,38 %)
- 62 sont lactose - (23,84 %)
- 91 sont nitrate - (35 %)
- 21 sont phosphatase - (8,08 %)
- 32 sont acétoïne - (12,30 %)

2) Staphylococcus haemolyticus (et souches apparentées)

Parmi les 10 souches isolées, aucune ne présente les mêmes caractères secondaires que la souche type de Schleifer et Kloos (MG - NAG - ADH + Urée -).

* 2 souches sont MG - NAG + ADH + Urée -

Une ne diffère de la souche type que par l'utilisation de la NAG.

L'autre est apparentée à l'espèce, car fructose + lactose + et mannitol + .

* 1 souche est MG - NAG - ADH + Urée +

Elle est apparentée car fructose + mannitol + et phosphatase +

* 3 souches sont MG - NAG - ADH - Urée +

Elles sont acétoïne - et lactose +

* 4 souches sont MG - NAG + ADH - Urée +

Ces 4 souches sont apparentées car :

1'une est acétoïne - et sucrose -

2 sont fructose + lactose + mannitol + acétoïne -

1 est fructose + lactose + mannose + mannitol +
et acétoïne -

On a classé par les souches apparentées à Staphylococcus haemolyticus plusieurs souches fructose + bien que l'absence d'utilisation du fructose soit un point important du diagnostic d'espèce, parce que la lysotypie par les phages de Staphylococcus aureus a montré des caractères voisins de celles des espèces de Staphylococcus haemolyticus, (Pillet 1977 (169) .

Parmi les 10 souches de Staphylococcus haemolyticus (et apparentées) :

1 souche est identique à la souche type (10 %)

5 souches sont fructose + (50 %)

7 sont lactose + (70 %)

5 sont mannitol + (50 %)

1 est mannose + (10 %)

1 est phosphatase + (10 %)

7 sont acétoïne - (70 %)

1 est sucrose - (10 %)

3) Staphylococcus hominis (et souches apparentées)

Parmi les 20 souches de Staphylococcus hominis, aucune ne présente les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH - Urée +)

* 4 sont MG - NAG + ADH - Urée +

2 ne diffèrent de la souche type que par l'utilisation de la NAG

1 est mannose + et lactose +

1 est apparentée à l'espèce car mannose + lactose +
acétoïne -

* 2 souches sont MG + NAG + ADH - Urée +

1 est acétoïne -

l'autre est lactose + et phosphatase +

* 1 souche est MG - NAG + ADH - Urée -

* 1 souche est MG - NAG + ADH + Urée +

Elle est également mannose + lactose + et acétoïne -, donc elle est apparentée à l'espèce.

* 9 souches sont MG - NAG + ADH + Urée -

5 souches ne diffèrent de la souche type que par ces 3 caractères :

1 souche est acétoïne -

1 est nitrate -

2 sont nitrate - et acétoïne -

* 1 souche est MG + NAG - ADH + Urée -

* 2 souches sont MG + NAG + ADH + Urée -

Une souche ne diffère de la souche type que par ces 4 caractères

L'autre est acétoïne -

Donc parmi les 20 souches de Staphylococcus hominis (et apparentées) :

10 souches sont identiques à la souche type (50 %)

3 sont mannose +

4 sont lactose +

3 sont nitrate -

7 sont acétoïne -

1 est phosphatase +

4) Staphylococcus warneri

4 souches ont été isolées

* 3 souches présentent les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH + Urée +).

1 souche est identique à la souche type

1 est mannose +

1 est phosphatase +

* 1 souche est MG - NAG - ADH - Urée +

Elle est également mannose +

Donc parmi les 4 souches de Staphylococcus warneri

- 1 souche est identique à la souche type
- 2 sont mannose +
- 1 est phosphatase +

5) Staphylococcus capitis

Les 8 souches de Staphylococcus capitis ont été identifiées autant par leurs caractères biochimiques que par leur morphologie. Les 8 souches présentent les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH + Urée -)

- 5 sont mannitol -
- 2 sont mannitol - et acétoïne -
- 1 est maltose + et mannitol -

Donc 8 souches sont mannitol -

- 2 sont acétoïne -
- 1 est maltose +

Le fort pourcentage de souches mannitol - s'explique par la croissance faible des souches de S. capitis ainsi que par leur aptitude à ne dégrader que faiblement le mannitol (toutes les souches isolées dégradent un peu le mannitol : réactions cotées 1 ou 2 sur 5).

6) Staphylococcus simulans (et souche apparentée)

Aucune des 2 souches isolées ne présente les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH - Urée +).

Les 2 souches sont (MG - NAG - ADH + Urée +).

Une souche est mannose + et acétoïne +

L'autre souche est apparentée à l'espèce, car mannose + acétoïne + et phosphatase -

Donc sur les 2 souches isolées :

- 2 sont mannose +
- 2 sont acétoïne +
- 1 est phosphatase -

7) Staphylococcus saprophyticus

La seule souche isolée ne présente pas les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH - Urée +).

MG - NAG + ADH + Urée -

Acétoïne -

8) Staphylococcus cohnii (et souches apparentées)

Parmi les 6 souches isolées, 5 souches présentent les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG - ADH - Urée -)

1 souche est identique à la souche type

2 sont mannose +

1 est phosphatase - et acétoïne -

1 souche est apparentée car maltose - tréhalose - et mannitol -

* 1 souche est MG - NAG - ADH + Urée +

Elle est également phosphatase - et nitrate +

Donc parmi les 6 souches isolées :

1 souche est identique à la souche type

2 sont mannose +

1 est maltose -

1 est tréhalose -

1 est mannitol -

1 est nitrate -

2 sont phosphatase -

1 est acétoïne -

9) Staphylococcus xylosus (et souche apparentée)

Parmi les 5 souches isolées, 1 souche présente les mêmes caractères secondaires que la souche type (MG - NAG + ADH - Urée +)

Cette souche est phosphatase -

* 1 souche est MG + NAG + ADH - Urée +

Cette souche est phosphatase -

* 1 souche est MG + NAG + ADH + Urée +

Elle est mélibiose +

* 1 souche est MG - NAG + ADH + Urée -

Cette souche est apparentée à l'espèce bien que phosphatase - , acétoïne - et surtout xylose - , car elle présente les caractères morphologiques de l'espèce, la plupart des caractéristiques biochimiques (dégradation de nombreux sucres) et aussi parce que la dégradation du xylose est notée 2/5 donc à la limite de positivité. Schleifer reconnaît que certaines souches de S. xylosus sont xylose - .

- * 1 souche MG + NAG + ADH + Urée -
Elle est également mélibiose +

Donc parmi les 5 souches isolées :

- 2 souches sont mélibiose +
- 3 souches sont phosphatase -
- 1 est acétoïne -
- 1 est xylose -

C - RESULTATS DE LA RECHERCHE DE CERTAINES ENZYMES ET TOXINES
ELABOREES PAR LES STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS

1) Recherche de la désoxyribonucléase (DNase) (sur 330 souches)

* 1 seule souche sécrète à la fois une DNase thermolabile et une DNase thermostable. Cette souche non classée, isolée d'une coproculture d'un malade de l'Hôpital Cardiologique est assez remarquable du point de vue biochimique (glucose + fructose + mannose + phosphatase + acétoïne + MG + NAG + et les autres caractères négatifs). Elle se rapproche de Staphylococcus capitis bien qu'elle soit mannitol - nitrate - et phosphatase +, mais elle ne diffère par la morphologie, caractéristique chez S. capitis (petites colonies très blanches, cultivant difficilement) ; elle se rapproche un peu aussi de Staphylococcus cohnii, mais elle en diffère par les caractères suivants : maltose - mannitol - et surtout tréhalose - .

Donc cette souche, non classée, très sensible à tous les antibiotiques présente sur sang de lapin et de mouton, un halo d'hémolyse de 11 mm de large et de 3 mm sur sang humain, alors que les plus grands halos d'hémolyse observés dans notre série ne dépassent pas 5 mm.

* 10 souches ont une DNase thermolabile et pas de DNase thermostable (3 %).

- Il s'agit de : 4 Staphylococcus hominis
2 Staphylococcus epidermidis
1 Staphylococcus capitis
3 souches non classées

- Parmi les souches de S. hominis :

. 2 ont été isolées dans la même expectoration d'un sujet sain et semblent identiques : mêmes caractères biochimiques, même résistance aux antibiotiques (Tétracycline, Doxycycline, Erythromycine) et des halos d'hémolyse de 2,8 à 3,2 mm sur sang de lapin, de 2,2 à 2,5 sur sang de mouton et 3,1 à 3,7 sur sang humain.

. Les deux autres ont été isolées dans la même coproculture d'un malade de l'H.I.A. Desgenettes et semblent aussi identiques : mêmes caractères biochimiques (sauf l'acétoïne qui est faiblement positive pour une souche), même résistance aux antibiotiques (Ampicilline) et des halos d'hémolyse variant de 2,2 à 2 sur sang de lapin, 2,2 à 2,1 sur sang de mouton, et 2,5 à 3 sur sang humain.

. Une souche de S. epidermidis a été isolée d'une coproculture de nourrisson et présente une résistance à 10 antibiotiques (les 3 lactamines sauf la céphalotine, les aminosides sauf la gentamicine, le chloramphénicol, la tétracycline et la doxycycline) ; la largeur des halos d'hémolyse est de 1 mm sur sang de lapin, de 1,1 sur sang de mouton et de 5,4 sur sang humain.

L'autre souche de S. epidermidis isolée d'une coproculture de nouveau-né est sensible à tous les antibiotiques, et ne provoque une légère hémolyse que sur sang de lapin (halo de 0,4 mm) et sur sang humain (halo de 1,5 mm).

* La souche de S. capitis isolée d'une expectoration de malade de l'H.I.A. Desgenettes est sensible à tous les antibiotiques et présente une faible hémolyse : 0,5 mm sur sang de lapin, 1,3 mm sur sang de mouton et 1,5 mm sur sang humain

. Parmi les souches non classées :

2 souches isolées d'une expectoration d'un malade de l'H.I.A. Desgenettes et qui semblent identiques ont des caractères biochimiques proches de S. capitis (mannose - maltose -), mais elles sont pigmentées en jaune ; elles sont sensibles à tous les antibiotiques et ne provoquent aucune hémolyse

1 souche isolée d'une expectoration d'un malade de l'H.I.A. Desgenettes présente des caractères biochimiques voisins de Staphylococcus xylosus, mais elle est xylose - et n'est pas pigmentée ; elle est sensible à tous les antibiotiques et

hémolytique : halo de 4,3 mm sur sang de lapin, 2,3 sur sang de mouton, et 2,8 sur sang humain.

2) Recherche des hémolysines

Nous avons testé 344 souches sur des boîtes de milieu gélosé au sang de lapin, de mouton et humain.

L'hémolysine α se recherche principalement sur sang de lapin, l'hémolysine β sur sang de mouton et l'hémolysine δ sur sang humain. Nous avons considéré comme positive, toute hémolyse dont le halo a une largeur supérieure ou égale à 2,5 mm. Les résultats globaux sont regroupés dans le tableau N° XX. On note que 68 % des souches ne donnent aucune hémolyse sur les 3 milieux et 1,45 % des souches donnent une hémolyse sur les 3 milieux ; 26,92 % des souches sont hémolytiques sur sang humain, 5;9 % sur sang de lapin et 5,52 sur sang de mouton.

Le tableau n° XXI donne les résultats de l'hémolyse sur sang humain ; le tableau N° XXII sur sang de lapin et le tableau N° XXIII sur sang de mouton. Ces 3 tableaux sont résumés dans la figure N° 1 .

Nous avons étudié plus spécialement certaines souches donnant une hémolyse particulière :

* Les souches donnant une hémolyse α seule :

Elles sont au nombre de 10.

- parmi les 5 souches de Staphylococcus epidermidis :

. une souche isolée d'une expectoration d'un malade présente un halo d'hémolyse de 3,15 mm sur sang de lapin, de 0,5 mm sur sang de mouton, et de 2 mm sur sang humain. Elle présente une multirésistance à 6 antibiotiques (chloramphénicol, tétracycline, doxycycline, erythromycine, lincomycine et trimétoprime-sulfamétoxazole).

. 2 souches isolées de l'expectoration du même malade, qui sont identiques du point de vue biochimique, mais diffèrent un peu par leur résistance aux antibiotiques (tétracycline + doxycycline pour l'une et tétracycline et trimétoprime-sulfamétoxazole pour l'autre). Elles présentent des halos d'hémolyse de 2,2 et 3,1 mm sur sang de lapin, 2 et 1,6 mm sur sang de mouton, 2,2 et 2,3 sur sang humain.

Tableau XX

HEMOLYSINES (344 souches testées)

	L ⊕ M ⊕ H ⊕	L ⊕ M ⊕ H ⊖	L ⊕ M ⊖ H ⊖	L ⊕ M ⊖ H ⊕	L ⊖ M ⊕ H ⊕	L ⊖ M ⊖ H ⊕	L ⊖ M ⊕ H ⊖	%
S. epidermidis	1	0	5	1	7	57	6	71
S. haemolyticus			2	4			3	33
S. saprophyticus							1	100
S. cohnii	2						3	60
S. hominis	1		3	3	1	5	6	32
S. xylosum						1	4	80
S. capitis							1	83
S. warneri							4	100
S. simulans							2	100
Inclassables	1			1		7	20	69
Total	5	0	10	9	8	70	7	344
Pourcentage du nombre total de souches isolées	1,45		2,90	2,61	2,32	20,35	2,03	68,89

L ⊕ hémolyse sur sang de lapin

L ⊖ pas d'hémolyse ou halo d'hémolyse < 2,5 mm sur sang de lapin

% pourcentage de chaque espèce L - M - H -

M : sang de mouton

H : sang humain

Tableau XXI

HEMOLYSINE SUR SANG HUMAIN

Halo d'hémolyse (en mm)	Hémolyse négative						Hémolyse positive					
	0	0,5	1	1,5	2		2,5	3	3,5	4	4,5	5
S. epidermidis	120	3	8	26	29		15	18	21	12	1	
S. hominis	5			1	3		4	3	2			
S. haemolyticus	2		3		3					2		
S. saprophyticus				1								
S. xylosus	4						1					
S. capitis	1		2	2	1							
S. cohnii	2				1		1	1				
S. warneri	1			1	2							
S. simulans	3							1				
Souches non classées	17			3	3		3	4		1		1
Total des souches	155	3	13	34	42		24	27	23	15	1	1
Pourcentage	45,86	0,88	3,84	10,05	12,42		7,1	7,98	6,8	4,43	0,29	0,29

Le pourcentage du nombre de souches ayant le même halo d'hémolyse est rapporté au nombre total de souches testées.

Tableau XXII

HEMOLYSINE SUR SANG DE LAPIN

	Hémolyse négative					Hémolyse positive						
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5		
Halo d'hémolyse (en mm)	0		1	1,5	2							
S. epidermidis	190	5	19	17	15	2	4	1				11
S. hominis	7		1	1	4	2	4					
S. haemolyticus	2		2		2	1	3					
S. saprophyticus				1								
S. xylosus	3	1			1							
S. capitis	5				1							
S. cohnii	2				2	1						
S. warneri	4											
S. simulans	2	1	1									
Souches non classées	22		4	3	1				1			1
Total des souches	237	7	27	22	26	6	11	1	1			1
Pourcentage	69,87	2,06	7,94	6,48	7,66	1,76	3,23	0,29	0,29			

Le pourcentage du nombre de souches ayant le même halo d'hémolyse est rapporté au nombre total des souches testées.

Tableau XXIII

HEMOLYSINE SUR SANG DE MOUTON

	Hémolyse négative						Hémolyse positive					
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5		
Halo d'hémolyse (en mm)	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5		
S. epidermidis	174	31	13	14	16	13	1					11
S. hominis	5	3	1	5	5	1						
S. haemolyticus	9		1									
S. saprophyticus	1											
S. xyloso	4	1										
S. capitis	2	2	1				1					
S. cohnii	1		1	1					1	1		
S. warneri	3											
S. simulans	2											
Souches non classées	19	2	2	3	3							1
Total des souches	220	39	19	23	24	14	2	0	1	1		1
Pourcentage	63,95	11,33	5,51	6,68	6,97	4,06	0,58		0,29	0,29		0,29

Le Pourcentage du nombre de souches ayant le même halo d'hémolyse est rapporté au nombre total de souches testées.

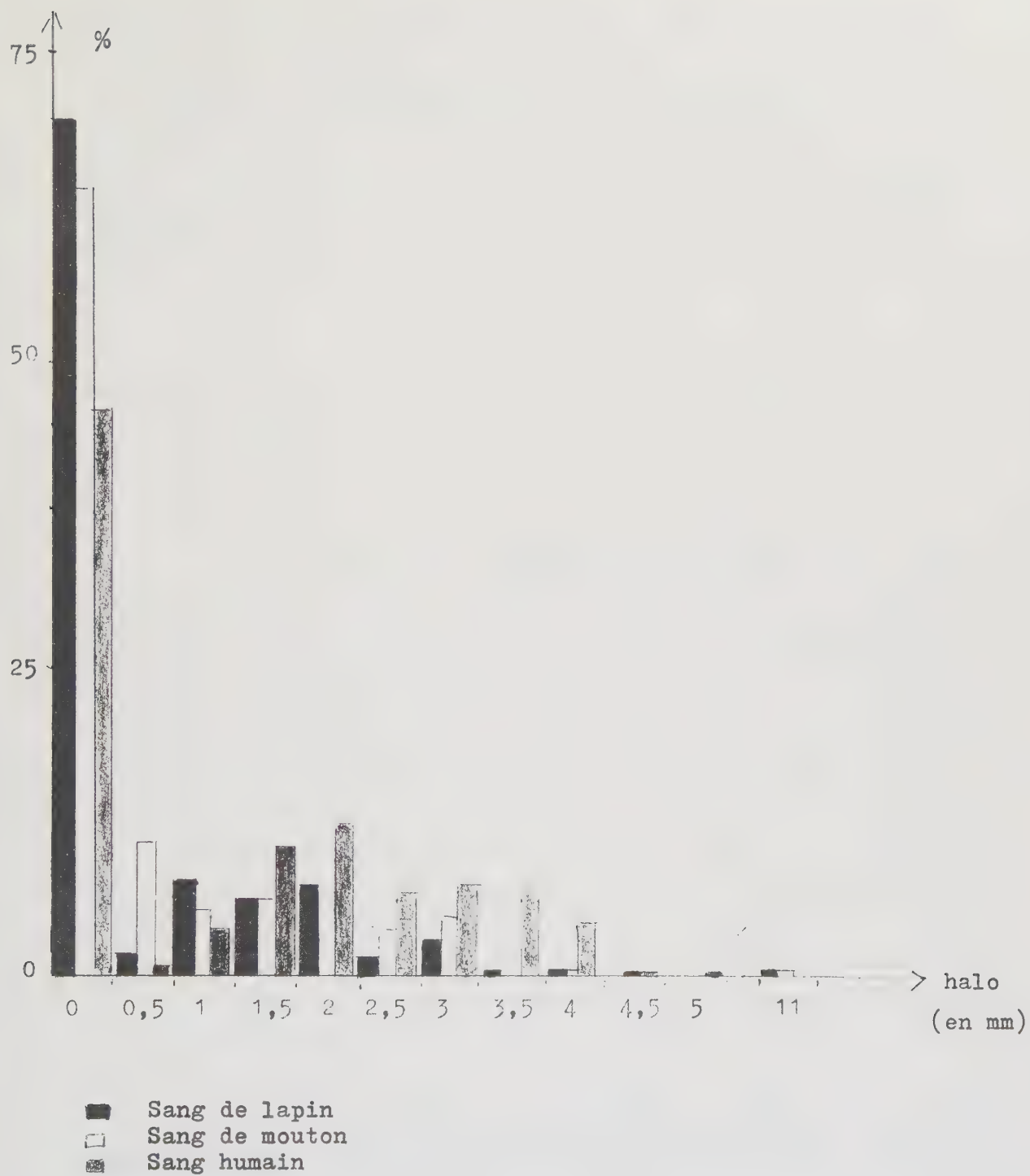


Figure 1 : HEMOLYSINES

. 2 souches isolées de l'expectoration du même malade et semblables par leurs caractères biochimiques sont très remarquables : l'une présente une multi-résistance à 12 antibiotiques (sensible à l'oxacilline, ampicilline, céphalotine, kanamycine, minocycline, rifampicine, pristinamycine, et furadoïne) et l'autre à 14 antibiotiques (elle résiste en plus à l'oxacilline et l'ampicilline). Leurs halos d'hémolyse sont de 2,6 et 3,15 mm sur sang de lapin, 2,2 et 2,4 mm sur sang de mouton, et 1,5 sur sang humain.

- Les 2 souches de Staphylococcus haemolyticus isolées d'une expectoration d'un sujet sain sont assez semblables. Sur le plan biochimiques, elles ne diffèrent que par l'oxydation du mannose ; elles sont résistantes à 5 antibiotiques pour l'une et à 6 pour l'autre (5 sont identiques et la tobramycine).

- 2 des 3 souches de Staphylococcus hominis donnent une hémolyse α seule ont été isolées de l'expectoration du même sujet sain, chez qui ont été isolées les 2 souches de S. haemolyticus précédentes ; elles ne diffèrent que par l'oxydation du mannose et du lactose ; elles résistent aux mêmes antibiotiques et ont pratiquement le même halo d'hémolyse : 2,8 mm pour la sang de lapin, 0,5 pour le sang de mouton et 1,95 et 2,15 pour le sang humain.

La 3ème souche de S. hominis a été isolée de l'expectoration d'un malade : elle est sensible à tous les antibiotiques et présente des halos d'hémolyse de 3 mm sur sang de lapin, 1 mm sur sang de mouton et 1,5 mm sur sang humain.

On remarque que toutes ces souches provoquant une hémolyse α isolée proviennent d'une expectoration.

* La seule souche donnant une hémolyse β isolée est un S. epidermidis isolé d'une expectoration d'un malade. Il est sensible à tous les antibiotiques. Son halo d'hémolyse a 2,1 mm de largeur sur sang de lapin, 3,35 mm sur sang de mouton et 2 mm sur sang humain.

* 5 souches sont hémolytiques sur 3 milieux

Un S. epidermidis isolé d'une expectoration d'un malade présente une multirésistance à 11 antibiotiques (β lactamines, sauf céphalotine, aminosides sauf néomycine et lividomycine, chloramphénicol, tétracycline et triméthoprim-sulfaméthoxazole) ; la largeur du halo

d'hémolyse est de 2,6 mm sur sang de lapin, de 2,5 mm sur sang de mouton et 4,45 mm sur sang humain.

- Les 2 souches de S. cohnii isolées de la même coproculture (d'un nouveau-né) ne diffèrent que par l'oxydation du mannose. Elles présentent les mêmes résistances aux antibiotiques (oxacilline, erythromycine) et des zones d'hémolyse assez identiques : 2,4 et 2,5 mm sur sang de lapin, 4,6 et 4 mm sur sang de mouton, 3,3 et 2,5 mm sur sang humain.

- La souche de S. hominis isolée d'une expectoration d'un sujet sain est résistante à 3 antibiotiques (tétracycline, doxycycline et érythromycine) et sécrète une DNase thermolabile. La largeur de son halo d'hémolyse est de 3,3 mm sur sang de lapin, 2,5 mm sur sang de mouton et 3 mm sur sang humain.

- La souche non classée est celle qui sécrète une DNase thermo stable ; nous avons vu que la largeur de ses halos d'hémolyse est de 11 mm pour le sang de lapin, et de 3 mm pour le sang humain. Elle a été isolée d'une coproculture d'un malade.

D - RECHERCHE DE LA PROTEINE A

120 souches ont été testées.

Toutes ont été négatives.

E/ Recherches des antigènes de *S. aureus* chez *S. haemolyticus*

Conformément aux résultats de Pillet, 1977 (169), nous avons essayé de typer 8 souches de *S. haemolyticus* avec les antisérums et les phages caractéristiques de *S. aureus*.

Les résultats sont les suivants :

Aucune souche n'est lysotypable et 4 ne sont pas sérotypables

1 souche est auto-agglutinable

2 souches sont (k1k2 , 18), l'une faiblement

1 souche est (263-II) faiblement

F/ Résultats de la recherche de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques

1) par la méthode des disques

Les résultats sont regroupés dans les tableaux XXIV (valeurs absolues) et XXV (pourcentages). On remarque qu'environ 75 % des souches sont sensibles aux pénicillines et près de 99 % à la Céphalotine, que 75 à 80 % des souches sont sensibles aux aminosides (avec près de 100 % pour l'amikacine), aux macrolides et au Chloramphénicol, tandis que seulement 40 à 50 % des souches sont sensibles aux Tétracyclines classiques et plus de 90 % à la Minocycline.

Pour la plupart des antibiotiques, les *S. epidermidis* sont légèrement plus résistants que les autres espèces ; pour certains antibiotiques, ces différences sont significatives : (test χ^2) ; il s'agit de la Céphalotine, l'Amikacine, l'association triméthoprim sulfaméthoxazole et le Chloramphénicol.

Si l'on étudie la pauci ou la multirésistance des souches, on s'aperçoit (tableau XXVI et figure 2) que :

- 26,23 % des souches sont sensibles à tous les antibiotiques
- 43,21 % sont résistantes à 4 antibiotiques ou moins
- 30,58 % sont multirésistantes (résistantes à plus de 4 antibiotiques réparties :

Tableau XXIV

RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES (METHODE DES DISQUES). Résultats
exprimés en valeur absolue

[illegible]

Tableau XXV

RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES (METHODE DES DISQUES) :

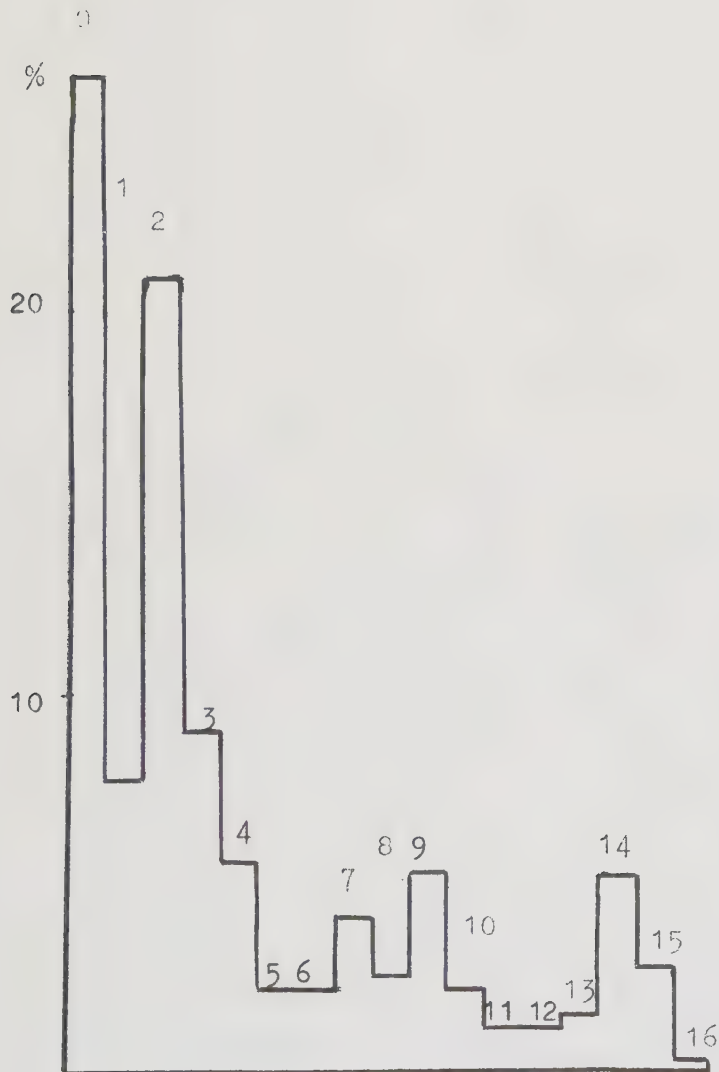
Résultats exprimés en pourcentages

	Toutes espèces	Staphylococ- cus epidermidis	Autres espèces confondues	Souches non classées
Nombre de souches	334	250	53	31
Pénicilline G	27,84	30,00	20,8	22,6
Oxacilline	21,56	23,6	13,2	19,4
Ampicilline	22,75	24,4	18,9	16,1
Céphalotine	1,20	0	5,7	3,2
Néomycine	19,46	24,8	3,8	3,2
Kanamycine	23,65	25,6	17,0	19,4
Gentamicine	17,07	19,2	11,3	9,7
Tobramycine	21,56	24,8	13,2	9,7
Lividomycine	27,25	28,8	20,8	25,8
Amikacine	0,30	0	1,9	0
Tétracycline	60,78	64,4	50,9	48,4
Doxycycline	51,20	52,8	45,3	48,4
Minocycline	8,68	8,8	9,4	6,5
Erythromycine	26,95	25,6	34,0	25,8
Lincomycine	22,75	24,4	18,9	16,1
Clindamycine	20,06	22,4	15,1	9,7
Pristinamycine	0,30	0,4	0	0
Rifampicine	2,40	2	5,7	0
Furadoïne	0,30	0,4	0	0
Trimétoprime Sulfamétoxazole	14,07	12	26,4	9,7
Chloramphénicol	22,46	27,6	3,8	12,9

Tableau XXVI

PAUCI ET MULTIRESISTANCE

Nombre d'anti- biotiques aux- quels les souches résistent	S. epidermidis	S. hominis	S. capitis	S. haemolyticus	S. warneri	S. cohnii	S. xylosum	S. simulans	S. saprophyticus	Souches non classées	Total Nbre de souches	Total Pourcentage
0 (donc sen- sible à tous)	61	2	7		3	1	1			10	85	26,23
1 antibiotique	18	3			0	1	1			2	25	7,71
2 antibiotiques	59	1		1	1	2				4	68	20,99
3 antibiotiques	16	3		4		1				5	29	8,95
4 antibiotiques	8	4		1				1		4	18	5,56
5 antibiotiques	4			3							7	2,16
6 antibiotiques	5			1						1	7	2,16
7 antibiotiques	9		1	1			1			1	13	4,01
8 antibiotiques	6	1								1	8	2,47
9 antibiotiques	17										17	5,25
10 antibiotiques	6								1		7	2,16
11 antibiotiques	2	1								1	4	1,23
12 antibiotiques	2									2	4	1,23
13 antibiotiques	4						1				5	1,54
14 antibiotiques	17										17	5,25
15 antibiotiques	9										9	2,81
16 antibiotiques	1										1	0,31
Nombre de Souches	244	15	8	11	4	5	4	1	1	31	324	100



Les chiffres indiquent le nombre de résistance aux antibiotiques

Figure 2 : PAUCI ET MULTI-RESISTANCE

en 16,05 % qui résistent de 5 à 9 antibiotiques
et 14,53 % qui résistent à plus de 9 antibiotiques.

Les figures 3, 4 et 5 montrent la fréquence de résistance à chaque antibiotique en fonction du nombre de résistances.

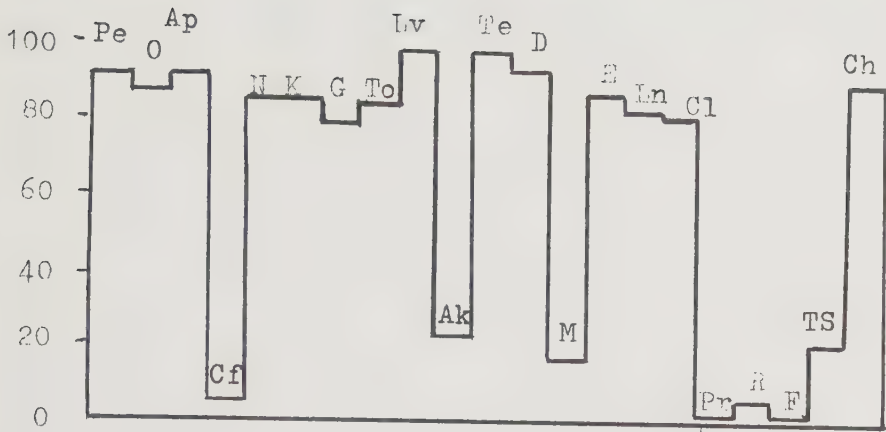
Nous avons comparé la résistance aux antibiotiques des souches isolées de sujets sains et hospitalisés (tableau XXVII).

Les souches isolées de malades hospitalisés sont plus résistantes aux antibiotiques que les souches de sujets sains. La différence est significative pour les β lactamines (sauf la Céphalotine), les aminosides, le Chloramphénicol et la Minocycline. Mais les souches de sujets sains semblent plus résistantes à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole, bien que la différence ne soit pas significative.

Le tableau XXVIII nous montre un fort pourcentage (41 %) de souches sensibles à tous les antibiotiques chez les sujets sains, contre 27 % chez les malades hospitalisés, mais cette différence n'est pas significative. A l'inverse le pourcentage de souche résistant à plus de 9 antibiotiques est faible chez les sujets sains (2,6 %) contre 17,6 % chez les malades hospitalisés (différence très significative). Ce tableau compare aussi le nombre de résistances de souches isolées d'adultes, d'enfants et de nouveau-nés. Chez l'adulte, 14 % des souches sont multirésistantes (résistantes à plus de 4 antibiotiques) contre 75 % chez les enfants et 62 % chez les nouveau-nés. Cette différence très importante peut s'expliquer par le fait que beaucoup d'enfants et de nouveau-nés proviennent de services de réanimation pédiatrique.

Nous avons aussi étudié en particulier les souches résistantes à l'Oxacilline, mais sensibles à la Pénicilline et les souches résistantes à la Céphalotine ou la Pristinamycine.

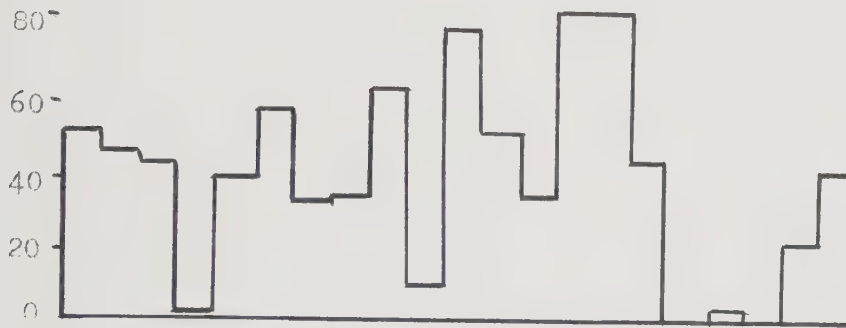
7 souches sont résistantes à l'Oxacilline et sensibles à la Pénicilline. Une souche provient d'une expectoration d'un malade et a été identifiée comme S. xylosus ; elle résiste à l'Oxacilline, la Céphalotine et tous les aminosides, sauf l'Amikacine. La CMI de l'Oxacilline est de 16 $\mu\text{g/ml}$ donc très supérieure au taux sérique moyen (2 $\mu\text{g/ml}$) alors que la CMI de la Pénicilline est de 1 $\mu\text{g/ml}$.



10 à 16 résistances

(47 souches)

Figure 3



5 à 9 résistances

(52 souches)

Figure 4



1 à 4 résistances

(140 souches)

Figure 5

La liste des abréviations se trouve page 117

Profils de résistance (en %)

ABREVIATIONS UTILISEES POUR LES ANTIBIOTIQUES

Pénicilline G	:	P
Oxacilline	:	O
Ampicilline	:	Ap
Céphalotine	:	Cf
Néomycine	::	N
Kanamycine	:	K
Gentamicine	:	G
Tobramycine	:	To
Lividomycine	:	Lv
Amikacine	:	Ak
Tétracycline	:	Te
Doxycycline	:	D
Minocycline	:	M
Erythromycine	:	E
Lincomycine	:	Ln
Clindamycine	:	Cl
Pristinamycine	:	Pr
Rifampicine	:	R
Furadoïne	:	F
Trimétoprime- Sulfamétoxaole	:	TS
Chloramphénicol	:	Ch

Tableau XXVII

FREQUENCE DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES
SOUCHES ISOLEES DE SUJETS SAINS OU HOSPITALISES.

	sujets sains	Malades hospitalisés
<u>Pénicilline G</u>	7,7	29,2
<u>Oxacilline</u>	5,1	22,9
<u>Ampicilline</u>	5,1	23,6
Céphalotine	0	1,7
<u>Néomycine</u>	5,1	19,6
<u>Kanamycine</u>	5,1	24,6
<u>Gentamicine</u>	0	18,9
<u>Tobramycine</u>	5,1	22,6
<u>Lividomycine</u>	10,3	26,9
Amikacine	0	2,7
Tétracycline	53,8	59,5
Doxycycline	43,6	49,8
<u>Minocycline</u>	0	9,3
Erythromycine	25,6	25,6
Lincomycine	12,8	22,9
Clindamycine	10,3	19,2
Pristinamycine	0	0,3
Rifampicine	0	3,3
Furadoïne	0	0,3
Trimétoprime Sulfaméthoxazole	17,9	10,6
<u>Chloramphénicol</u>	5,1	22,3

Tous les chiffres sont donnés en pourcentage

Les antibiotiques soulignés présentent une différence de
fréquence significative

Tableau XXVIII

FREQUENCE DE PAUCI ET MULTIRESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES
EN FONCTION DE L'ORIGINE DES PRELEVEMENTS

	Sujets sains	Malades	Adultes	Enfants	Nouveau- nés
Sensible à tous les antibiotiques	41	27,2	37,1	4,2	18,8
Résistance de 1 à 4 antibiotiques	43,6	41,2	48,8	22,5	0
Résistance de 5 à 9 antibiotiques	12,8	13,9	5,1	46,5	62,5
Résistance à plus de 9 antibiotiques	2,6	17,6	8,9	26,8	18,8
Total	100	99,9	99,9	100	100,1

Résultats exprimés en pourcentage

4 souches ont été isolées d'une coproculture de nourrisson : il s'agit de 3 S. cohnii et d'une souche non classée. 2 sont résistantes à l'Oxacilline et l'Erythromycine, les 2 autres sont de plus résistantes à la Lincomycine. La CMI à l'Oxacilline qui n'a été faite que sur 3 souches est de 0,5 µg/ml, donc les souches seraient sensibles.

Un S. epidermidis provient d'une expectoration de malade ; il résiste aussi aux aminosides, à la Tétracycline et à la Lincomycine. Sa CMI à l'Oxacilline est de 16 µg/ml.

Une souche non classée provient d'une expectoration d'un sujet sain. Elle résiste à l'Oxacilline seule, mais sa CMI est à 1 µg/ml, donc elle serait sensible.

Nous n'avons isolé qu'une souche résistant à la Pristinamycine : il s'agit d'un S. epidermidis résistant à 14 antibiotique, toutes les Pénicillines, la Néomycine, la Kanamycine, la Lividomycine, le Chloramphénicol, les Tétracyclines, les macrolides et la Pristinamycine. La CMI de la Pristinamycine n'a pas été déterminée.

Nous avons isolé 4 souches résistantes à la Céphalotine.

Le S. xylosus isolé d'une expectoration de malade, résistant aussi à l'Oxacilline (voir plus haut) et qui a une CMI à 16 µg/ml.

Une souche apparentée à l'espèce S. xylosus (car xylose - , mais noté 2/5) isolée d'une coproculture d'un malade, qui résiste à 13 antibiotiques: les β lactamines, la Kanamycine, la Tobramycine, la Lividomycine, la Tétracycline, la Rifampicine, les macrolides et l'association Triméthoprim-Sulfaméthoxazole. Sa CMI est à 16 µg/ml (64 pour la Pénicilline et > 128 pour l'Oxacilline) donc la souche serait sensible à la Céphalotine.

Un S. saprophyticus isolé d'une expectoration de malade résistant à 10 antibiotiques : β lactamines, Lividomycine, Tétracycline, Erythromycine Doxycycline, Chloramphénicol et Triméthoprim-Sulfaméthoxazole. Sa CMI est de 128 µg/ml et supérieure à 128 pour la Pénicilline et l'Oxacilline.

Une souche non classée a été isolée d'une coproculture de nouveau-né (elle est xylitol $\ominus$, mélibiose $\ominus$, phosphatase $\ominus$, acétoïne $\ominus$, raffinose $\ominus$, xylose $\ominus$, les autres caractères sont positifs). Elle résiste à 11 antibiotiques : β lactamines, aminosides sauf Néomycine et Amikacine, Erythromycine, Triméthoprim-Sulfaméthoxazole. Sa CMI est à 128 $\mu\text{g/ml}$ (128 pour la Pénicilline et supérieure à 128 pour l'Oxacilline).

2) Par la méthode des CMI

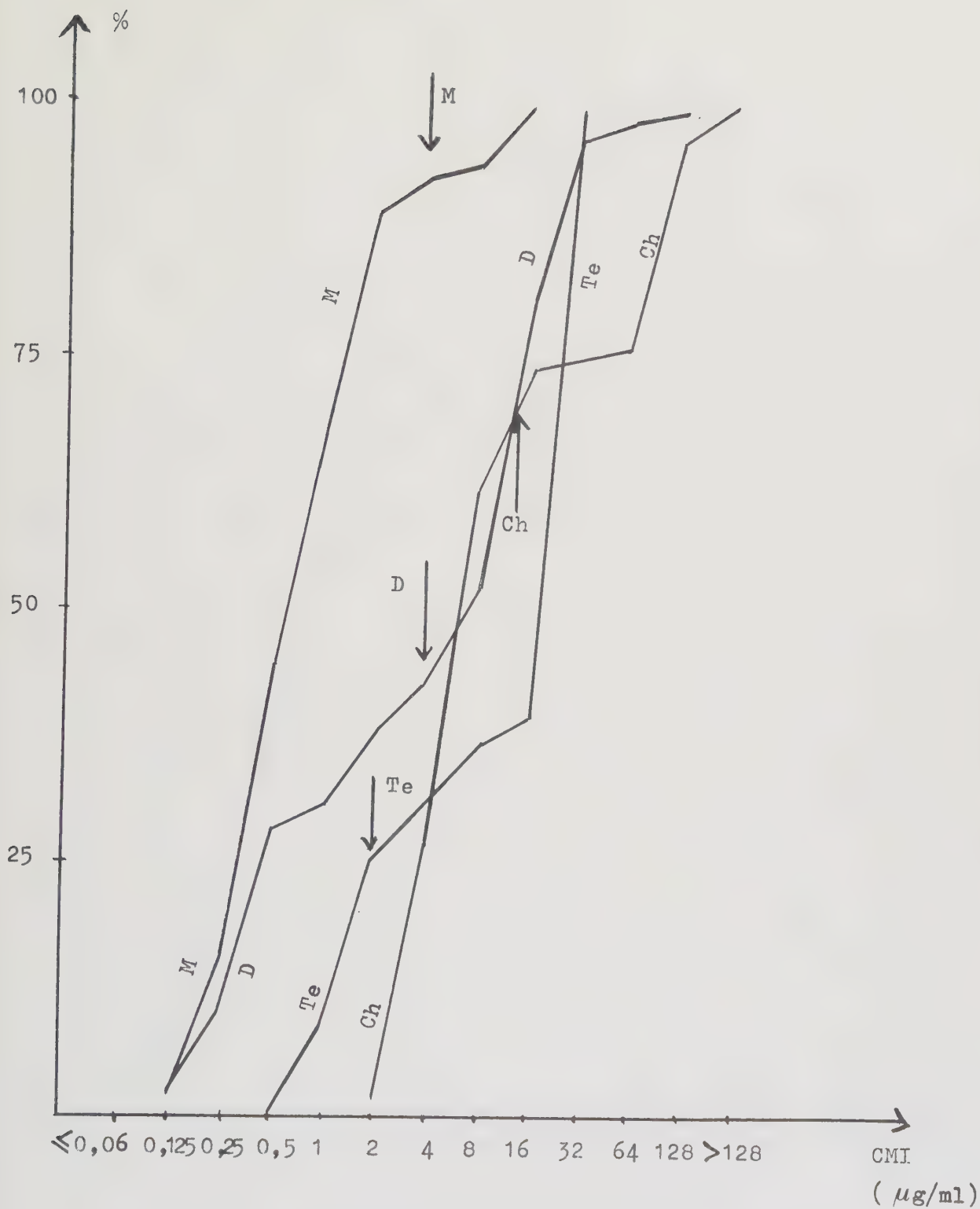
Les résultats des CMI sont représentés dans le tableau XXIX sous forme de pourcentages cumulés et dans les figures 6, 7, 8, 9 (courbes de pourcentages cumulés). Le tableau XXIX montre aussi les taux sériques des antibiotiques, obtenus avec une posologie moyenne, ce qui permet de voir la fréquence de résistance : 20 % pour les Pénicillines, 3 % pour la Céphalotine, entre 13 et 35 % pour les aminosides, à l'exception de l'Amikacine (3 %), 38 % pour le Chloramphénicol, de 7 % pour la Minocycline à 56 % pour la Doxycycline et 73 % pour la Tétracycline, entre 25 et 30 % pour les macrolides et 4 % pour la Pristinamycine.

Tableau XXIX POURCENTAGES CUMULES DES CMI DES 258 SOUCHES DE STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS

	≤0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Pénicilline	26,07	33,85	45,91	54,08	66,14	76,65	80,54	84,04	87,15	92,21	97,66	99,22	100
Oxacilline	2,33	24,12	68,48	79,37	82,09	82,87	83,65	86,37	89,48	93,37	95,70	97,65	99,99
Céphalotine	5,42	43,01	75,95	81,76	88,34	94,92	95,30	96,07	96,84	98,77	99,15	99,99	
Néomycine	22,57	43,58	57,98	61,48		64,59	69,65	73,15	73,54	76,26	81,32	84,04	99,99
Kanamycine	1,55	12,40	22,48	46,12	56,59	58,53	60,47	61,63	64,34	66,28	70,16	72,10	100
Gentamicine	53,88	70,55	79,46			80,62	84,11	86,05	93,03	96,91	100		
Tobramycine	43,97	64,98	69,65	71,60	73,55	74,72	76,67	85,62	92,62	95,34	96,90	98,07	100
Lividomycine	1,16	8,14	25,97	39,92	56,59	67,83	68,99				69,77	70,55	100
Amikacine	2,71	6,58	22,86	44,57	63,17	72,86	83,71	92,24	97,28	98,44		98,83	99,99
Chloramphénicol						1,16	26,26	62,17	74,14	75,30	76,84	96,53	100
Tétracycline				0,39	8,95	25,68	31,13	36,58	36,69	100			
Doxycycline		1,93	10,81	28,18	30,88	38,22	43,24	52,51	79,92	96,91	98,84	100	
Minocycline		1,93	15,44	44,78	67,95	89,96	93,43	94,20	99,99				
Erythromycine	1,54	6,56	60,61	68,33	69,49			69,88			70,27	70,66	100
Lincomycine		0,39	12,79	48,06	65,89	70,98	72,92	74,08	75,24	76,79		77,18	100
Clindamycine	60,23	69,88	74,51	75,67	76,06	76,83		77,22	77,61				100
Pristinamycine *	36,08	69,07	73,19	80,41	88,66	89,69	95,88	100					
Pristinamycine I					0,39	1,16	5,02	18,92	50,58	67,95	72,20	74,52	100
Pristinamycine II			0,78	1,94	6,20	17,83	60,85	83,72	85,66	89,15	90,70	91,86	100

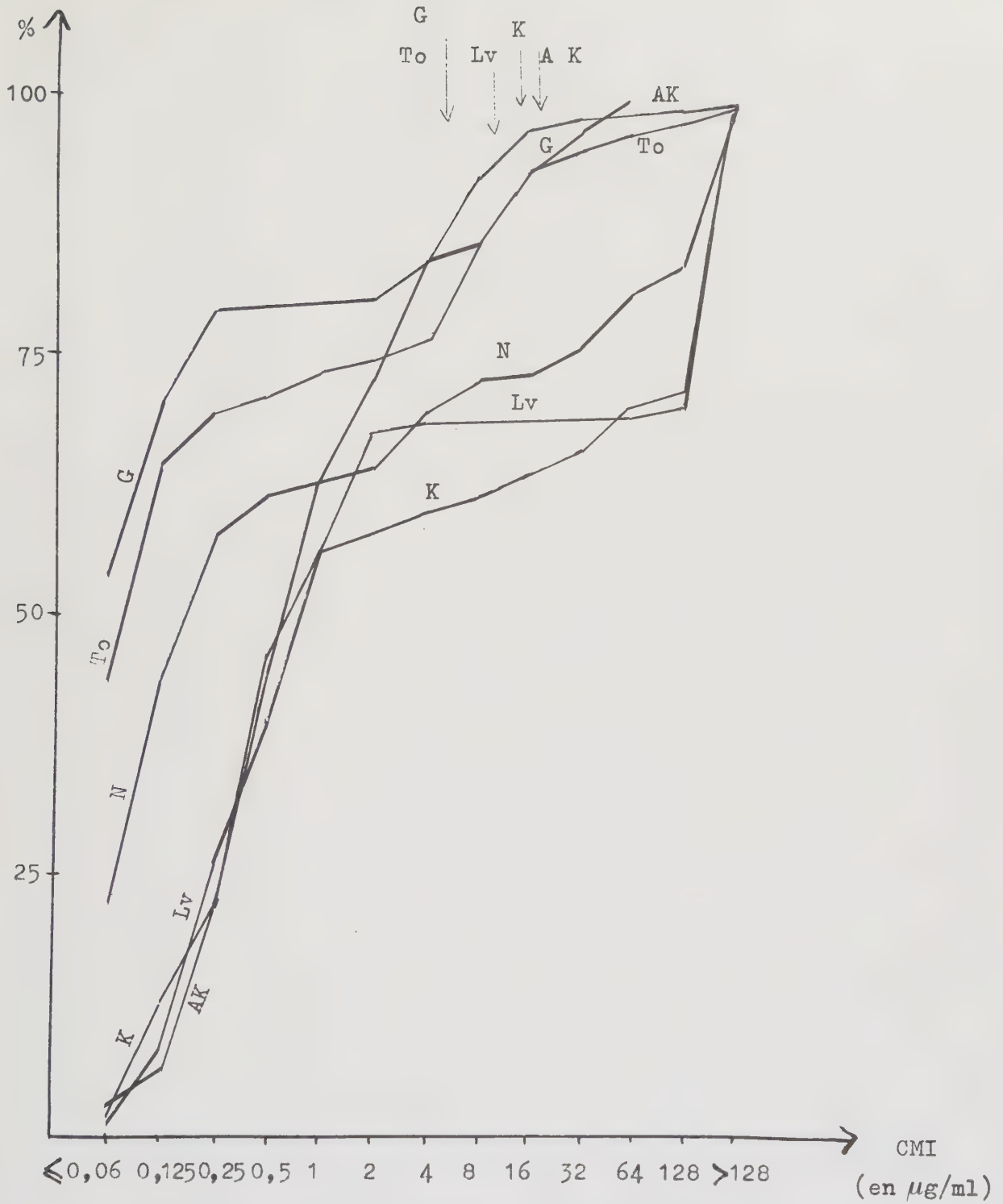
* La CMI ne porte que sur 98 souches

Le trait plein représente les taux sériques moyens des antibiotiques



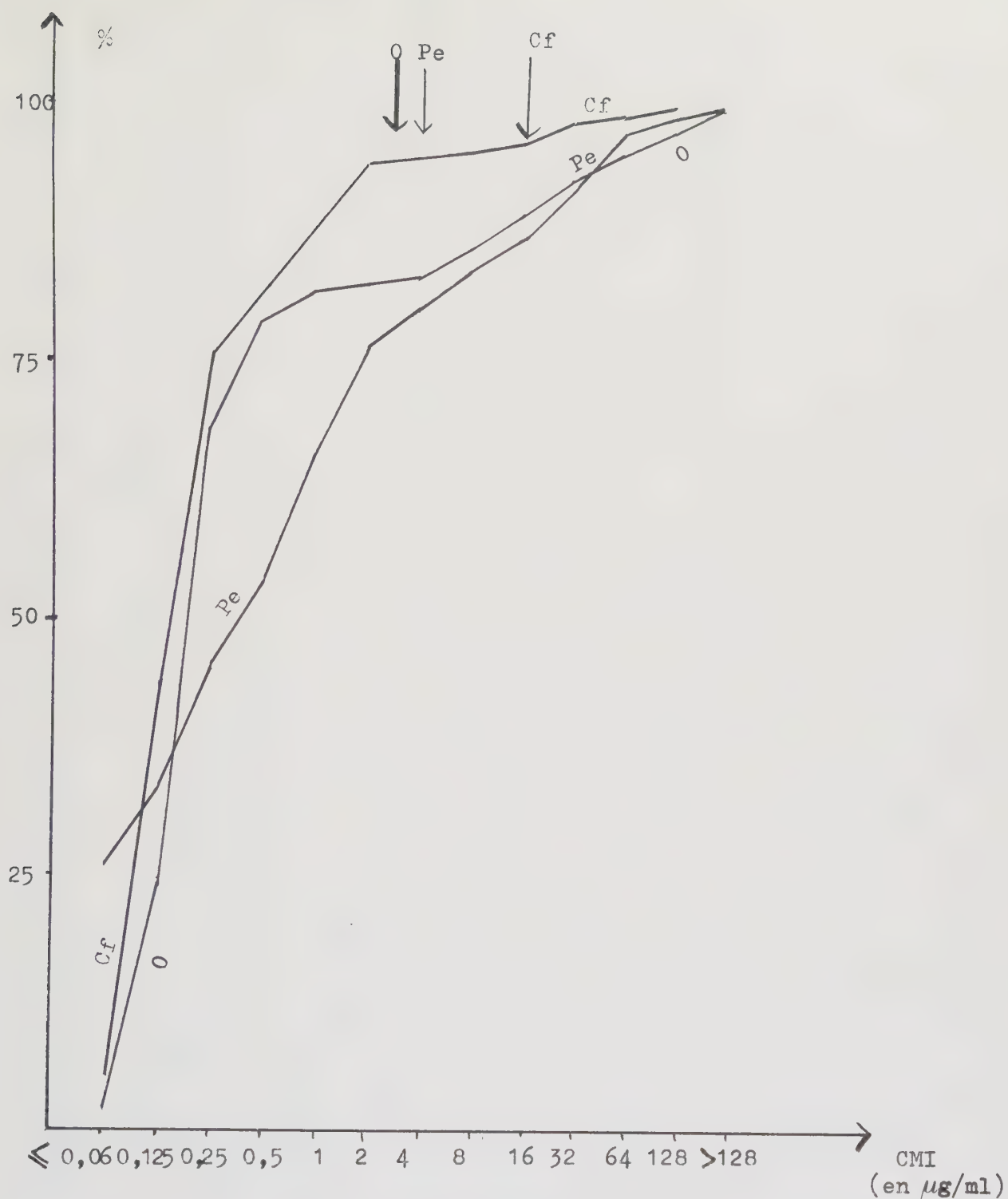
Les flèches représentent les taux sériques moyens
La liste des abréviations se trouve p. 117

Figure 6 : COURBE DE POURCENTAGE CUMULES (TETRACYCLINES ET CHLORAMPHENICOL)



Les flèches représentent les taux sériques moyens
La liste des abréviations se trouve p. 117

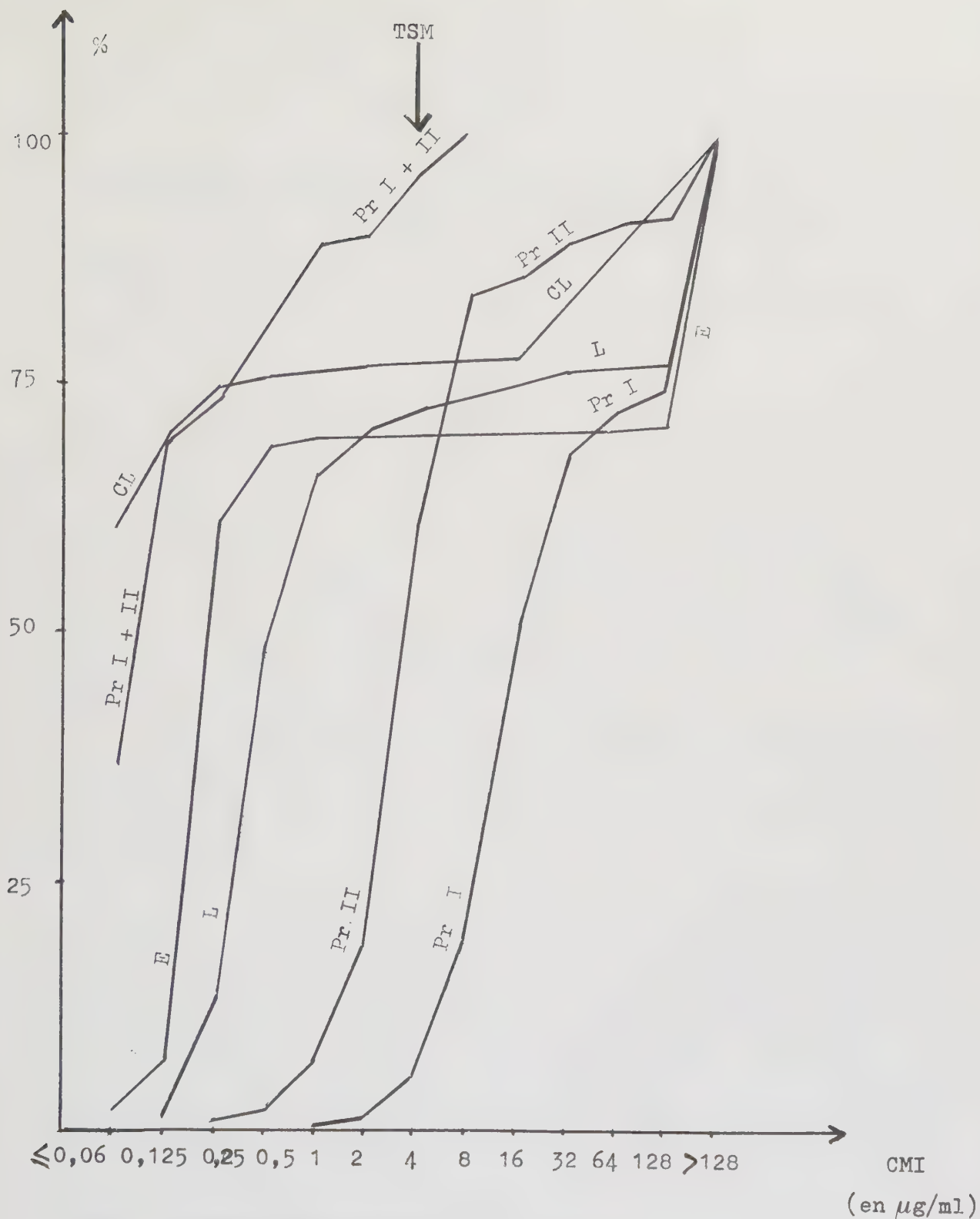
Figure 7 : COURBE DE POURCENTAGES CUMULES (AMINOSIDES)



Les flèches représentent les taux sériques moyens

La liste des abréviations se trouve p. 117

Figure 8 : COURBE DE POURCENTAGES CUMULES (β lactamines)



TSM : Taux sérique moyen

La liste des abréviations se trouve p. 117

Figure 9 : COURBE DE POURCENTAGES CUMULES (MACROLIDES ET APPARENTES)

DISCUSSION

I - DISCUSSION ANALYTIQUE DES RESULTATS BACTERIOLOGIQUES

1) Fréquence des Staphylocoques coagulase négatifs dans les différents prélèvements.

Nous avons comparé nos résultats avec ceux trouvés dans la littérature.

a) Coprocultures d'adultes

Rares sont les auteurs qui ont différencié S. aureus, Microcoques et Staphylocoques coagulase négatifs.

Les données les plus récentes montrent que les prélèvements contiennent des Micrococcaceae dans 78 % [Mitsuoka, 1976 (138)] à 90 % des cas [Ellis-Pegler, 1976 (54), Mitsuoka, 1973 (137)]. Nous n'avons trouvé pour notre part des Staphylocoques coagulase négatifs que dans 16,3 % des prélèvements.

Cette différence importante peut s'expliquer :

- soit par une prépondérance des S. aureus, ce qui n'est pas retrouvé dans la littérature [Haenel, 1965 (85) : la moitié des souches pigmentées (soit 18,5 % du nombre total de souches) sont des S. aureus].

- soit par notre méthode de repérage des colonies (sur leur morphologie) pouvant nous faire négliger des Staphylocoques ; cependant les colonies sur milieu gélosé de Chapman étaient souvent peu nombreuses et donc systématiquement repiquées et identifiées. Par ailleurs, nous avons souvent repiqué de nombreuses colonies et beaucoup d'entre elles étaient des Streptocoques, ce qui nous laisse penser que peu de colonies de Staphylocoques nous ont échappé, (en moyenne, nous avons trouvé un Staphylocoque pour une vingtaine de colonies repiquées).

b) Coprocultures d'enfants

Chez les enfants, les Micrococcaceae sont retrouvés plus souvent que chez l'adulte ; Mata, 1969 (136) : 75 % , Mitsuoka, 1973 (137) : 100 %, Ellis-Pegler, 1975 (54) : 75 à 100 %, Moriametz, 1977 (142) : 100 %.

Cohen, 1962 (29) trouve une fréquence de 82 % de *Staphylococcus* coagulase négatifs et de 4 % de *S. aureus* dans une collectivité fermée (orphelinat) et respectivement 64 et 7,6 % de prélèvements positifs chez des enfants hospitalisés.

Nous ne trouvons que 52,3 % des prélèvements qui contiennent des *Staphylococcus* coagulase négatifs.

Moriamez (142) trouve que *S. aureus* représente 43 % des souches de *Micrococcaceae*.

c) Expectoration

Nous avons trouvé une fréquence d'isolement des *Staphylococcus* coagulase négatifs de 69,3 %, ce qui est voisin de celle de Murray, 1975 (147) qui est de 63 % en milieu hospitalier (sur 382 prélèvements).

Les *Staphylococcus* coagulase négatifs sont retrouvés plus fréquemment dans les prélèvements de sujets hospitalisés que des sujets sains ; la différence est significative (test khi2) pour les coprocultures et les expectorations. Il peut s'agir d'un portage acquis à l'hôpital, donc une forme particulière d'hospitalisme infectieux.

2) Répartition des espèces en fonction des prélèvements

Nous avons comparé les espèces isolées avec les résultats de Schleifer et Kloos, 1975 (178 -111) sur des souches isolées de la peau et avec ceux de Brun et col., 1977 (22) sur des souches isolées d'infection chez l'homme (tableau XXX).

Sur la peau, les *S. epidermidis* ne représentent que 50 % des souches classées, contre plus de 80 % pour nos prélèvements, tandis que les *S. hominis* et apparentés qui représentent 30 % des souches cutanées ne forment que 6,5 % de nos souches isolées. On peut donc discuter le rôle des muqueuses pour réensemencer la peau en *S. epidermidis* ; la situation est inversée pour *S. hominis*.

Les souches isolées d'infections ont une fréquence assez semblable aux souches commensales, excepté pour *S. saprophyticus* qui représente 9 % des souches isolées d'infection et 0,3 % des souches commensales. Il semble donc plus apte que les autres espèces à donner des syndrômes infectieux. Le gîte écologique de *S. saprophyticus* reste donc inconnu.

Nous avons aussi comparé les caractères biochimiques de nos souches avec celles isolées de la peau par Schleifer et Kloos (111 - 113).

Tableau XXX

FREQUENCE D'ISOLEMENT DES DIFFERENTES ESPECES DE
STAPHYLOCOQUES COAGULASE NEGATIFS
(en pourcentage)

	Schleifer et Kloos (178-111)	Brun et col. (22)	Résultats personnels
Année	1975	1977	1978
<i>S. epidermidis</i>	50,3	86,1	82,2
<i>S. haemolyticus</i>	3,7	0,9	3,1
<i>S. hominis</i>	29,6	0,9	6,5
<i>S. warneri</i>	0,7	0	1,2
<i>S. capitis</i>	5,3	2,2	2,5
<i>S. simulans</i>	1,3	0,4	0,6
<i>S. saprophyticus</i>	3,6	9	0,3
<i>S. cohnii</i>	3,2	0,4	1,9
<i>S. xylosus</i>	2,2	0	1,6
Total	99,9	99,9	99,9

	Schleifer et Kloos	Résultats personnels
Mannose (+)	93 - 95	99,2
Maltose (+)	100	99,6
Lactose (+)	76 - 80	76
Nitrate (+)	85 - 88	65
Phosphatase (+)	95	92
Acétoïne (+)	100	87,7
Tréhalose (+)	2	0
(Résultats en pourcentage)		

3) Recherche de la DNase

a) DNase thermolabile

Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'Abramson, 1967 (1) sur des souches isolées d'infections, de Brun, 1971 (21) sur des souches isolées d'infections et des souches commensales

	Nombre de souches	DNase + (en %)
Abramson	300	20
Brun (infections)	107	8,4
Brun (souches commensales)	180	5
Résultats personnels	320	3

Les souches commensales semblent moins nombreuses à sécréter une DNase, que les souches isolées d'infections, mais il est difficile de comparer les résultats, car les méthodes de recherche de la DNase sont différentes. Les résultats de Schleifer et Kloos (178 - 111) sont très différents : une DNase est retrouvée dans 83 % des S. epidermidis, 100 % des S. capitis et S. simulans.

Ces résultats semblent dus à la technique différente (DNase test agar Difco).

b) DNase thermostable

La DNase thermostable considérée comme spécifique de l'espèce S. aureus [Baird-Parker, 1974 (8)] a été retrouvée chez des espèces de Staphylocoques coagulase négatifs [Devriese, 1975 (43)]. Notre seule souche positive, qui n'est pas un S. aureus [coagulase négative, caractères biochimiques différents, (maltose, lactose, tréhalose, mannitol, nitrate, N acétylglucosamine et urée négatifs) et sensibilité à tous les antibiotiques testés] semble entrer dans ce cadre.

4) Recherche de l'hémolyse

Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'Abramson (1) et de Brun (21) sur des souches isolées d'infections :

	Hémolyse sur sang de lapin (en %)	Hémolyse sur sang de mouton (en %)	Hémolyse sur sang humain (en %)	pas d'hémolyse (en %)
Abramson	70	50	70	
Brun	67	42	61	30,8
Résultats personnels	7	6	27	68

Nos résultats personnels diffèrent beaucoup car nous avons considéré qu'une souche était hémolyse + si la largeur de son anneau d'hémolyse était supérieure à 2 mm. Si nous prenons ce critère, les résultats de Brun deviennent les suivants :
hémolyse sur sang de lapin : 25 %, sur sang de mouton : 7 % et sur sang humain : 25 %. La différence ne persiste que pour l'hémolyse sur sang de lapin ; cette différence est significative (test χ^2) et est en accord avec Baird Parker, 1974 (8) qui considère que l'hémolyse α (qui se révèle préférentiellement sur sang de lapin) est un critère de pathogénicité.

La souche qui n'était hémolytique que sur sang de mouton était peut-être d'origine animale; mais nous n'avons pas pratiqué de réaction du "hot-cold", car il s'agissait d'un test de screening très simple.

5) Sensibilité - Résistance aux antibiotiques

a) Méthode des disques

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de Corse, 1968 (32), de Brun (21) et ceux des souches isolées d'infections, du service de Bactériologie (Pr Fleurette) de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique (années 1976-1977) dans le tableau XXXI. Les souches que nous avons isolées sont plus sensibles aux β lactamines et au Triméthoprim sulfaméthoxazole que les souches isolées d'infections en 1976-1977 et plus résistantes à la Minocycline. Elles sont plus résistantes aux β lactamines et plus sensibles à la Tétracycline et au Chloramphénicol que les souches isolées par Brun.

b) CMI

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de Brun (21), de Sabath, 1976 (175), de souches isolées d'infections, du service de bactériologie (Pr Fleurette) de l'hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique (années 1976-77) dans le tableau XXXII. Nos souches sont plus résistantes que celles de Brun (excepté pour l'Oxacilline) et que celles de Sabath. Elles sont aussi plus résistantes aux Tétracyclines, Chloramphénicol que les souches isolées d'infections en 1976-77 ; par contre, elles sont plus sensibles aux β lactamines que ces dernières.

Tableau XXXI .

RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES (résultats en pourcentage)

	CORSE (32) 1968	BRUN (21) 1971		FLEURETTE 1976-77	Résultats personnels
Nombre de souches	570	120 ^a	180 ^b	112	334
Pénicilline	59,6	11,6	19,4	41,1	27,8
Oxacilline	8,8	9,1	23,8	35,7	21,6
Ampicilline		5,8	9,4	31,2	22,8
Céphalotine	0	3,3	2,7	4,5	1,2
Néomycine	22,8	15,8	6,6	24 *	19,4
Kanamycine	20	20,8	12,2	41 *	23,7
Gentamicine	0	0	0	13 *	17,1
Tobramycine				16 *	21,6
Tétracycline	44,2	72,5	68,8	62,6	60,8
Doxycycline				52,3	51,2
Minocycline				2,8	8,7
Erythromycine	8,4	27,5	26,1	28,4	27
Lincomycine	0	20	14,4		22,8
Clindamycine				22,4	20,1
Pristinamycine		0	1,1	0	0,3
Rifampicine		0	1,1	5 *	2,4
Trimétoprime Sulfaméthoxazole				71 *	14,1
Chloramphénicol	14	27,5	24,4	29,5	22,5

a) souches isolées d'infection

b) souches commensales

* résultats de l'année 1976 seule

Tableau XXXII

RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES (CMI)

	BRUN (21) 1971	SABATH (175) 1976	FLEURETTE 1976-77	Résultats personnels	Taux sériques moyens
Nombre de souches	120	35	112	258	
Pénicilline G	8,3	5	25,9	15,5	4
Oxacilline	18,3	0	50	11,1	3
Céphalotine	2,5	0	3,6	3,3	16
Kanamycine		10		35,7	16
Gentamicine	0	0		15,9	6
Tobramycine		5		23,3	6
Amikacine		0		2,7	20
Chloramphénicol	27,5	0	29,5	37,8	15
Tétracycline	67,5	40	66,4	74,4	2
Doxycycline		20	54,2	57,8	4
Minocycline		0	0,9	6,6	4
Erythromycine	3,3	5	33	30,5	4
Lincomycine	9,2	5		27	4
Clindamycine		5	25,9	23,2	4
Pristinamycine	2,5		2,7	4,1	4

Les résultats sont exprimés en pourcentage de souches résistantes, par rapport aux taux sériques moyens choisis dans notre étude.

II - DISCUSSION GENERALE

Nous aimerions discuter de 3 problèmes : l'absence de Microcoques dans nos prélèvements, la possible contamination des fécès par la flore périnéale, et des expectorations par la salive, enfin de la valeur de la classification de Schleifer et Kloos.

Nous n'avons retrouvé aucun Microcoque dans nos prélèvements alors que tous les auteurs qui les ont recherchés en trouvaient dans tous les prélèvements. Ceci peut s'expliquer par 2 raisons :

- tout d'abord notre critère de différenciation entre Staphylocoques et Microcoques repose sur l'épreuve au lysozyme et à la lysostaphine, alors que pour la plupart des auteurs, il s'agissait de l'utilisation du glucose en aéro-anaérobiose.

- d'autre part, les 2 milieux que nous avons utilisés (milieu gélosé de Chapman et gélose P à l'acide nalidixique) étaient peut-être trop sélectifs ; certains Microcoques sont en effet inhibés par une forte teneur en NaCl, ou en acide nalidixique.

Tous les germes que nous avons isolés, étaient résistants au lysozyme et plus ou moins sensibles à la lysostaphine.

Le problème se pose aussi de savoir si les Staphylocoques isolés des prélèvements que nous avons effectués étaient présents dans ces prélèvements, ou s'il ne sont que des contaminants de la flore périnéale et salivaire.

Elkins, 1974 (52) trouve dans la flore du périnée de femmes en bonne santé, des S. aureus dans 63 % des cas et des Staphylocoques coagulase négatifs dans 58 % des cas. Donc pour éviter de recueillir des Staphylocoques cutanés lors des coprocultures, nous avons toujours prélevé un échantillon à l'intérieur des fécès, et non pas à la surface. Mais pour éliminer formellement une contamination importante, il faudrait pouvoir comparer les distributions des espèces de Staphylocoques coagulase négatifs dans ces 2 types de prélèvement ; à notre connaissance, cela n'a jamais été fait.

La flore salivaire contient aussi des Micrococcaceae : Boulay, 1973 (19) en trouve dans moins de 1 % des prélèvements, tandis que Jordan, 1973 (105) en trouve dans 55 % des prélèvements. Dans ce cas la contamination des expectorations est quasi-certaine, car nous n'avons pris aucune précaution pour l'éviter : le lavage des crachats n'est pas très efficace, et nous n'avons pas voulu imposer une intubation à des sujets sains.

La classification de Schleifer et Kloos (178 -111) nous a permis de classer plus de 90 % de nos souches, mais il persiste dans les souches non classées, des souches intermédiaires entre 2 espèces que l'on ne peut rattacher ni à l'une, ni à l'autre. C'est pourquoi Kloos et Schleifer, 1976 (113), en se basant sur l'homologie DNA-DNA d'une espèce à l'autre, ont regroupé 6 espèces en 2 grands groupes.

- S. xylosus, S. saprophyticus, et S. cohnii ; caractérisés par leur résistance à la Novobiocine et l'absence (ou le faible niveau) de sérine dans le peptidoglycane de la paroi

- S. haemolyticus, S. hominis et S. warneri, caractérisés par leur sensibilité à la Novobiocine, la présence de sérine dans le peptidoglycane (donc la légère résistance à la lysostaphine) et 2 caractères biochimiques : tréhalose + et mannose - .

- les espèces S. capitis et S. epidermidis sont assez proches de ce 2ème groupe, tandis que S. simulans se rapproche plus de S. aureus

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ABRAMSON C., FRIEDMAN H., 1967
Enzymatic activity of primary isolates of Staphylococci in relation to antibiotic resistance and phage type.
J. Infect. Dis., 117, 242-248
- 2 - ANDERSON C.M., LANGFORD R.F., 1958
Bacterial content of small intestine of children in health, in coeliac disease and in fibrocystic disease of pancreas.
Brit. Med. J., 1, 803-806
- 3 - AXELSSON C.K., JUSTESSEN T., 1977
Studies of the duodenal and fecal flora in gastrointestinal disorders during treatment with an elemental diet.
Gastroenterology, USA, 72, (3), 397-401
- 4 - BACH-NIELSEN P., AMDRAP E., 1965
Acta Clin. Scand., 129, 521
- 5 - BAIRD-PARKER A.C., 1963
A classification of Micrococci and Staphylococci based on physiological and biochemical tests.
J. Gen. Microbiol., 30, 409-427
- 6 - BAIRD-PARKER A.C., 1965
The classification of Staphylococci and Micrococci from worldwide sources.
J. Gen. Microbiol., 38, 363-387
- 7 - BAIRD-PARKER A.C., 1972
In "Staphylococci" J.O. COHEN, p. 7
Wiley Intersciences
- 8 - BAIRD-PARKER A.C., 1974
Micrococcaceae
In "Bergey's manual of determinative bacteriology"
8th Ed. Baltimore, Williams and Wilkins Co.
- 9 - BARBER M., FLANKLIN R.H., 1946
Brit. Med. J., 951
- 10 - BARTLETT R.C., 1974
Medical microbiology : quality, cost and clinical relevance
John Wiley and sons, New York , p 24-31

- 11 - BARTLETT J.G., ALEXANDER J., MAYHEW J., and al., 1976
Should fiberoptic bronchoscopy aspirates be cultured ?
Ann. Rev. Resp. Dis., 114, 73-78
- 12 - BARTLETT J.G., ONDERDONK A.B., DRUDE E. and al., 1977
Quantitative bacteriology of the vaginal flora.
J. Infect. Dis., 136, (2), 271-277
- 13 - BARTLETT J.G., ROSENBLATT J.E., FINEGOLD S.M., 1973
Percutaneous transtracheal aspiration in the diagnosis of
anaerobic pulmonary infection.
Ann. Int. Med., 79, 535-540
- 14 - BERGOGNE-BEREZIN E., ZECHOVSKY N., CERF M. and al., 1973
Etude critique de 100 tubages jéjunaux. Essai de confrontation
des données cliniques et bactériologiques.
Sem. Hop. ; Path. Biol., 21, 505-514
- 15 - BISCHOP R.F., ALLCOCK E.A., 1960
Bacterial flora of the small intestine in acute intestinal
obstruction.
Brit. Med. J., I, 766-770
- 16 - BLACKLOCK J.W.S., GUTHRIE K.J., MAC PHERSON I., 1937
A study of the intestinal flora of children
J. Path. Bact., 44, 321-335
- 17 - BORDACOVA J., 1966
Beitrag zur Bewertung der bakteriellen Scheiden mikroflora
Zbl. Bakt. Orig., 199, 225-233
- 18 - BORNSIDE G.H., WELSH J.S., COHN I.Jr, 1966
Bacterial flora of the human small intestine.
JAMA, 196, 1125-1127
- 19 - BOULAY F., 1973
Flore microbienne de l'oropharynx dans les leucémies aiguës.
Porte d'entrée de l'infection et "regard" sur la flore intestinale.
Thèse odontologie, Lyon,
- 20 - BROWN W.R., SAVAGE D.C., DUBOIS R.S., and al., 1972
Intestinal microflora of immunoglobulin deficient and normal human
subjects.
Gastroenterology, 62, 1143-1152
- 21 - BRUN Y., 1971
Staphylococcus epidermidis : rôle en pathologie humaine.
Etude bactériologique et sérologique de 300 souches.
Thèse médecine, Lyon.

- 22 - BRUN Y., FLEURETTE J., FOREY F., 1977
Identification biochimique des Staphylocoques coagulase négatifs par microméthode.
Communication à la Soc. Franc. Microbiologie, Lyon.
- 23 - BRUN Y., FLEURETTE J., FOREY F., 1978
Identification biochimique des Staphylocoques coagulase négatifs par microméthode.
J. Clin. Microbiol. (à paraître en novembre 1978)
- 24 - BURBIANKA M., PLISZKA A., BURZYNSKA H., 1961
Med. Doswiasi Mikrobiol., 13, 309
- 25 - BURNETT C.W., SCHERP H.W., 1968
Oral microbiology and infectious disease
The Williams and Wilkins Compagny Edit. Baltimore.
- 26 - BUTTIAUX R., PIERRET J., 1949
Les staphylocoques pathogènes dans les selles des nourrissons normaux.
Ann. Inst. Pasteur, 76, 480-482
- 27 - CHAFA F., VAHDAT A., 1972
Staphylocoques et Gonocoques chez la femme (étude de 180 souches).
Bord. Med., 5, 245-249
- 28 - CHALLACOMBE D.N., RICHARDSON J.M., ANDERSON C.M., 1974
Bacterial microflora of the upper gastrointestinal tract in infants without diarrhoea.
Arch. Dis. Child., 49, 264-269
- 29 - COHEN S.L., CLUFF E.L., 1962
A study of the intestinal flora in a closed pediatric community.
Amer. J. Hyg., 76, 262-266
- 30 - COHN I., 1965
Intestinal antisepsis.
Dis. Colon Rectum, 8, 11-18
- 31 - CONTE B.A., LAFORET E.G., 1962
The role of the topical anesthetic agent in modifying bacteriologic data obtained by bronchoscopy.
New England J. Med., 267, 957-960
- 32 - CORSE J., WILLIAMS R.E.O., 1968
Antibiotic resistance of coagulase negative Staphylococci and Micrococci.
J. Clin. Path., 21, 722-728

- 33 - COWAN, STEEL'S, 1974
Manual for the identification of medical bacteria.
2 nd Ed., Cambridge University Press
- 34 - CREGAN J., HAYWARD N.J., 1953
The bacterial content of the healthy human small intestine.
Brit. Med. J., 1, 1356-1359
- 35 - CROWTHER J.S., 1971
Transport and storage of faeces for bacterial examination.
J. Appl. Bacteriol., 34, 477-484
- 36 - CURRY J.C., 1974
The use of FTO agar for Micrococcus - Staphylococcus differentiation.
Abstracts Ann. Meeting ASM, p. 7
- 37 - DACK G.M., PETRAN E., 1934
Bacterial activity in different levels of the intestine.
J. Infect. Dis., 54, 204-240
- 38 - DAUCHY S., SARRAT H., 1970
Pouvoir pathogène expérimental de Staphylococcus epidermidis :
action sur le tissu cutané de la souris.
Ann. Inst. Pasteur, 118, 657-664
- 39 - DECELLE J.G., TAYLOR G.R., 1976
Autoflora in the upper respiratory tract of Appolo astronauts.
Appl. Environ. Microbiol., 32, 659-665
- 40 - DELLIGIANI W., GIRWOOD H., 1969
Observations on the bacteriology of the gastrointestinal tract
in man.
In "Malabsorption" GIRWOOD R.H. et SMITH A.N.
University Press - Edinburg, p. 193
- 41 - DE LOUVOIS J., HURLEY R., STANLEY V.C., 1975
Microbial flora of the lower genital tract during pregnancy.
Relationship to morbidity.
J. Clin. Pathol., 28, 731-735
- 42 - DEMOLE M., PERRENOUD J.P., LASSERRE R. and al., 1964
Une nouvelle technique d'investigation du contenu intestinal :
la pyxigraphie.
Arch. Mal. App. Dig., 53, 702-705
- 43 - DEVRIESE L.A., OEDING P., 1975
Coagulase and heat resistant nuclease producing Staphylococcus epidermidis strains from animals.
J. Appl. Bact., 39, 197-207
- 44 - DICKMAN M.D., CHAPPELKA A.R., SCHAEDELER R.W., 1976
The microbial ecology of the upper small bowel
Am. J. Gastroenterol., 65, 57-62

- 45 - DIXON J.M.S., 1960
The fate of bacteria in the small intestine.
J. Path. Bact., 79, 131-140
- 46 - DONALDSON R.M., 1964
Normal bacterial populations of the intestine and their relations to intestinal function.
New Engl. J. Med., 270, 938-944 ; 994-1001 ; 1050-1056
- 47 - DRASAR B.S., 1967
Cultivation of anaerobic intestinal bacteria
J. Path. Bact., 94, 417-427
- 48 - DRASAR B.S., HILL M.J., 1974
Human intestinal flora.
Academic Press London, New York, San Francisco
- 49 - DRASAR B.S., HILL M.J., SHINER M., 1966
The deconjugation of bile salt by intestinal bacteria.
Lancet, 1, 1237-1238
- 50 - DRASAR B.S., SHINER M., MC LEOD G.M., 1969
Studies on the intestinal flora : the bacterial flora of the gastrointestinal tract in healthy and achlorhydric persons.
Gastroenterology, 56, 71-79
- 51 - DUBOS R., SCHAEDELER R.W., COSTELLO R., 1963
Composition, alteration and effects of the intestinal flora.
Fed. Proc., 22, 132
- 52 - ELKINS I.B., COX C.E., 1974
Perineal, vaginal and urethral bacteriology of young women.
I. Incidence of gram negative colonization.
J. Urol., 111, 88-92
- 53 - ELLER C., CRABILL M.R., BRYANT M.P., 1971
Anaerobic roll tube media for non selective enumeration and isolation of bacteria in human feces.
Appl. Microbiol., 22, 522-529
- 54 - ELLIS PEGLER R.B., CRABTREE C., LAMBERT H.P., 1975
The faecal flora of children in the United Kingdom.
J. Hyg., 75, 135-142
- 55 - ENJALBERT L., LARENG M.B., GOZE A., 1970
La bactériologie des suppurations pulmonaires.
Rev. Prat., 20, 2329
- 56 - ERLICH H., 1961
Bacteriological studies and effects of anesthetic solutions on bronchial secretions during bronchoscopy.
Am. Rev. Resp. Dis., 84, 414-421
- 57 - ESTRADE G., 1954
Contribution à l'étude de l'endémie staphylococcique du nourrisson au moyen des bactériophages et des antibiogrammes.
Thèse Med., Bordeaux n° 94

- 58 - EVANS J.B., KLOOS W.E., 1972
Use of shake cultures in a semisolid thioglycolate medium for differentiating Staphylococci from Micrococci.
Appl. Microbiol., 23, 326-331
- 59 - FELDHEIM G., SCHMIDT E.F., HAENEL H., 1960
Über die Besiedlung des Meconiums.
Zbl. Bakt. Abt. I, Orig., 177, 62-71
- 60 - FINEGOLD S.M., FLORA D.J., ATTEBERY H.R. and al., 1975
Fecal bacteriology of colonic polyp patients and control patients.
Cancer Res., 35, 3407-3417
- 61 - FINEGOLD S.M., SUTTER V.L., BOYLE J.D. and al., 1970
The normal flora of ileostomy and transverse colostomy effluents.
J. Infect. Dis., 122, 376-381
- 62 - FLANDROIS J.P., 1978
Etude immunochimique des antigènes de type de S. aureus. Les agglutinogènes h1 et a5.
Thèse de Biologie Humaine, Lyon, n° 23
- 63 - FLEURETTE J., 1977
Infections à Staphylocoques.
Encycl. Med. Chir. (Paris) Maladies Infectieuses.
Fasc 8007 A 10 (11-1977)
- 64 - FLEURETTE J., BRUN Y., 1972
Rôle en pathologie humaine de Staphylococcus epidermidis ; étude de 120 souches isolées chez 53 malades.
Med. Mal. Infect., 2, 299-308
- 65 - FLEURETTE J., BRUN Y., 1977
Pouvoir pathogène des Staphylocoques coagulase négatifs.
Communication à la Soc. Franç. de Microbiol. , Septembre 1977, Lyon.
- 66 - FLOCH M.H., GERSHENGOREN W., FREEDMAN L.R., 1968
Methods for the quantitative study of the aerobic and anaerobic intestinal bacterial flora of man.
Yale J. Biol. Med. , 41, 50-61
- 67 - FLOWERS R.S., MARTIN S.E., BREWER D.G. and al., 1977
Catalase and enumeration of stressed Staphylococcus aureus cells.
Appl. Environ. Microb., 33, 1112-1117
- 68 - GERNEZ RIEUX C., GERARD A., 1952
Bactériologie des suppurations des muqueuses respiratoires.
J. Franc. Med. Chir. Thorac., 6, 478-486
- 69 - GIANELLA R.A., BROITMAN S.A., ZAMCHECK N., 1972
Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man. Studies in vivo and in vitro.
Gut, 13, 251-256

- 70 - GIBBONS R.J., KAPSIMALIS B., 1967
Estimates of the overall rate of growth of the intestinal microflora of hamsters, guinea pigs and mice.
J. Bact., 93, 510-512
- 71 - GOLDSMITH G.A., 1965
Intestinal flora, nutrition and metabolism.
Amer. J. Dig. Dis., 10, 829-835
- 72 - GOLDSTEIN F., WIRTS C.W., JOSEPHS L., 1962
The bacterial flora of the small intestine
Gastroenterology, 42, 755-756
- 73 - GOPLERUD C.P., OHM M.J., GALASK R.P., 1976
Aerobic and anaerobic flora of the cervix during pregnancy and the puerperium.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 126, 858-868
- 74 - GORBACH S.L., MENDA K.B., THADEPALLI H. and al., 1973
Anaerobic microflora of the cervix in healthy women.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 117, 1053-1055
- 75 - GORBACH S.L., NAHAS L., LERNER P.I. and al., 1967
Studies of intestinal microflora. I. Effects of diet, age and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man.
Gastroenterology, 53, 845-855
- 76 - GORBACH S.L., NAHAS L., WEINSTEIN L. and al., 1967
Studies of the intestinal microflora. IV. The microflora of ileostomy effluent : a unique microbiological ecology.
Gastroenterology, 53, 874-880
- 77 - GORBACH S.L., PLAUT A.G., NAHAS L. and al., 1967
Studies of the intestinal microflora. II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora.
Gastroenterology, 53, 856-867
- 78 - GRACEY M., SUHARJONO, SUNOTO, 1977
Use of a simple duodenal capsule to study upper intestinal microflora.
Arch. Dis. Child., GB, 52, 74-76
- 79 - GROV A., 1967
Studies on antigens preparations from Staphylococcus aureus. 3.
On the homogeneity and structure of protein A.
Acta Path. Microbiol. Scand., 69, 567-575
- 80 - GROV A., 1968
Studies on antigen preparation from Staphylococcus aureus.
4. Separation and purification of protein A and a related precipitogen.
Acta Path. Microbiol. Scand., 73, 400-406
- 81 - GRUN L., 1958
Arch. Hyg., 142, 3

- 82 - GYLLENBERG H., ROINE P., 1957
The value of colony counts in evaluating the abundance of Lactobacillus bifidus in infant faeces
Acta Path. Microbiol. Scand., 41, 144-150
- 83 - HAENEL H., 1960
Aspekte der mikroökologischen Beziehungen des Makroorganismus.
Zbl. Bakt. I. Ref., 176, 1-121
- 84 - HAENEL H., 1961
Some roles in the ecology of the intestinal microflora of man.
J. Appl. Bact., 24, 242-251
- 85 - HAENEL H., GOLDBACH W., HOFFMANN G. and al., 1965
Zum Nachweis von Hefen, Staphylokokken, aeroben Sporen bildnern und Pseudomonas sowie von Lysozym im Stuhl gesunder Erwachsener.
Zbl. Bakt. I. Orig., 197, 244-255
- 86 - HAENEL H., MULLER-BEUTHOW W., 1957
Vergleichende quantitative Untersuchungen über Keimzahlen in den faeces der Menschen und einiger Wirbeltiere.
Zbl. Bakt. I. Orig., 167, 123-133
- 87 - HANDELMAN S.L., MILLS J.R., 1965
Enumeration of selected salivary bacterial groups.
J. Dental Res., 44, 1343
- 88 - HARDIE J.M., BOWDEN G.M., 1974
The normal microbial flora of the mouth
in "The normal microbial flora of man", p. 47
Academic Press, New York, San Francisco.
- 89 - HARKEN D.E., SALZBERG A.M., 1948
Transtracheal anesthesia for bronchoscopy.
New Engl. J. Med., 239, 383-385
- 90 - HECZKO P.B., PULVERER G., KASPROWICZ A., KLEIN A., 1977
Evaluation of a new bacteriophage set for typing of Staphylococcus epidermidis strains
J. Clin. Microbiol., 6, (5), 573-577
- 91 - HENNING N., ZEITLER G., NEUGEBAUER I., 1959
Über eine Darmpatrone zur Entnahme von Dünndarminhalt für bakteriologische Untersuchungen.
München Med. Wschr., 100, 1858
- 92 - HERMANN W., KUHLMANN F., 1954
Bakteriologischer und klinischer Beitrag zum Dysbakterie Problem.
Medizinische, 8, 1409-1412
- 93 - HESS A.F., 1912
J. Infect. Dis., 11, 71
- 94 - HEWETSON J.R., 1904
The bacteriology of certain parts of the human alimentary canal and of the inflammatory process arising therefrom.
Brit. Med. J., 2, 1457-1460

- 95 - HIRTZMANN M., REUTER G., 1963
Klinische Erfahrung mit einer neuen automatisch gesteuerten Kapsel zur Gewinnung von Darminhalt und bakteriologische Untersuchungen des Inhalts höherer Darmabschnitte.
Med. Klin., 58, 1408-1412
- 96 - HITE K.E., HESSELTINE H.C., GOLDSTEIN L., 1947
A study of the bacterial flora of the normal and pathological vagina and uterus.
Amer. J. Obstet. Gynec., 53, 233
- 97 - HOFFMAN H., 1966
Oral microbiology.
Adv. Appl. Microbiol., 8, 195
- 98 - HOLDEMAN L.V., GOOD I.J., MOORE W.E.C., 1976
Human fecal flora : variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress.
Appl. Environ. Microbiol., 31, 359-375
- 99 - HUNGATE R.E., 1950
Bact. Rev., 14, 1
- 100 - HURLEY R., STANLEY V.C., LEASK B.G.S. and al., 1974
Microflora of the vagina during pregnancy.
In "The normal microbial flora of man" p. 155
Academic Press, London, New York, San Francisco
- 101 - JAMES R.D., MC LEOD C.D., 1961
Induction of staphylococcal infection in mice with small inocula introduced on sutures.
Brit. J. Exp. Path., 42, 266
- 102 - JEFFRIES L., CAWTHORNE M.A., HARRIS M. and al., 1969
Menaquinone determination in the taxonomy of Micrococcaceae
J. Gen. Microbiol., 54, 365-380
- 103 - JENSEN K., 1958
A normally occurring Staphylococcus antibody in human serum.
Acta Path. Microbiol. Scand., 44, 421-428
- 104 - JOHNSEN G.S., ENDRESEN C., GROV A., OEDING P., 1975
Studies on polysaccharide C of Staphylococcus epidermidis
1/ Isolation and chemical characterization
2/ Antigenic properties
Acta Path. Microbiol. Scand., Sect B, 83, 226-239
- 105 - JORDAN G.N., WONG G.A., HOEPRICH P.D., 1976
Bacteriology of the lower respiratory tract as determined by fiber-optic bronchoscopy and transtracheal aspiration.
J. Infect. Dis., 134, 428-435
- 106 - JULIANELLE L.A., WIEGHARD C.W., 1935
The immunological specificity of Staphylococci.
I. The occurrence of serological types.
J. Exp. Med., 62, 11-21

- 107 - KALINSKE R.W., PARKER R.H., BRANDT D. and al., 1967
Diagnostic, usefulness and safety of transtracheal aspiration.
New Engl. J. Med., 276, 604-608
- 108 - KALSER M.H., ARTEAGA I., YAWN E. and al., 1965
Microflora of the small intestine.
Amer. J. Digest. Dis., 10, 839-843
- 109 - KALSER M.H., COHEN R., ARTEAGA I. and al., 1966
Normal viral and bacterial flora of the human small and large intestine.
New Engl. J. Med., 274, 500-505 et 558-563
- 110 - KETTYI I., BARNA K., 1964
Studies on the human intestinal flora. I. The normal intestinal flora and the stability of its constituents.
Acta Microbiol. (Acad. Sci. Hung.), 11, 173-183
- 111 - KLOOS W.E., SCHLEIFER K.H., 1975
Isolation and characterization of staphylococci from human skin.
II. Description of four new species : S. warneri, S. capitis, S. hominis and S. simulans.
Int. J. Syst. Bacteriol., 75, (25), 62-79
- 112 - KLOOS W.E., SCHLEIFER K.H., 1975
Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species.
J. Clin. Microbiol., 1, 82-88
- 113 - KLOOS W.E., SCHLEIFER K.H., NOBLE W.C., 1976
Estimation of character parameters in coagulase negative Staphylococcus species.
in "Staphylococcus and staphylococcal diseases"
Ed. J. Jeljasiewicz, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York
- 114 - KLOOS W.E., TORNABENE T.G., SCHLEIFER K.H., 1974
Isolation and characterization of Micrococci from human skin including two new species : Micrococcus lylae and Micrococcus kristinae.
Int. J. Syst. Bacteriol., 24, 79-101
- 115 - KUMPER C., 1962
Bakteriologische Stuhlbefunde oraler Colizufuhr.
Thesis Bonn.
- 116 - LACHICA R.V.F., GENIGEORGIS C., HOEPRICH P.D., 1971
Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity.
Appl. Microbiol., 21, 585-587
- 117 - LAPINSKI E.M., FLAKAS E.D., TAYLOR B.C., 1964
Evaluation of some methods for culturing sputum from patients with bronchitis and emphysema.
Am. Rev. Resp. Dis., 89, 760-763
- 118 - LATHAM M.J., SCHARPE E., 1971
In "The isolation of anaerobes ". The Soc. for applied Bacteriology. Technical series n° 5

- 119 - LAURENZI G.A., POTTER R.T., KASS E.H., 1961
Bacteriologic flora of the lower respiratory tract.
New England. J. Med., 265, 1273-1278
- 120 - LAZAR Z., ZALMAN M.W., ELIAS A. and al., 1969
Importance de l'état de porteur de Staphylocoques pathogènes
dans le milieu industriel. Etude des souches isolées.
Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol., 28, 675-681
- 121 - LEACH P.A., BULLEN J.J., GRANT I.D., 1971.
Anaerobic CO₂ cabinet for the cultivation of strict anaerobes .
Appl. Microbiol., 22, 824
- 122 - LEES A.W., MC NAUGHT W., 1959
Bacteriology of lower-respiratory-tract secretions, sputum and
upper-respiratory-tract secretions in "normal" and chronic
bronchitis.
Lancet, 277, 1112-1115
- 123 - LE LIRZIN M., CHAMBREUIL G., DELALANDE A. and al., 1976
Analyse quantitative de la flore bactérienne des crachats en
routine hospitalière.
Rev. Fr. Mal. Resp., 4, 379-388
- 124 - LE MELLETIER J., BROWAEYS J., 1967
La flore bactérienne des sécrétions trachéobronchiques dans
les bronchites chroniques.
Le poumon et le coeur, 23, 1
- 125 - LE MELLETIER J., BROWAEYS J., DUGUE P., 1971
La flore bactérienne des affections bronchopulmonaires courantes
et les difficultés de son identification.
Presse Med., 79, 1857-1858
- 126 - LE NOC P., 1955
Les modifications de la flore intestinale aérobie du nourrisson
et du jeune enfant sous l'influence des traitements antibiotiques.
Thèse Med. Bordeaux, n° 227
- 127 - LEVISON M.E., CORMAN L.C., CARRINGTON E.R. and al., 1977
Quantitative microflora of the vagina.
Amer. J. Obstet. Gynaec., 127, (1), 80-85
- 128 - LEVRAT M., PASQUIER J., TRUCHOT et al., 1969
Etude bactériologique de l'intestin grêle avec numération des
germes par tubage jéjunale protégé.
Arch. Franç. Mal. App. Dig., 58, 417-432
- 129 - LOSNEGARD N., OEDING P., 1963
Immunochemical studies on polysaccharides from Staphylococcus
epidermidis.
I. Isolation and characterisation
II. Antigenic properties.
Acta Path. Microbiol. Scand., 58, 482-500

- 130 - LOURIA B.D., 1962
Uses of quantitative analysis of bacterial populations in sputum.
JAMA, 182, 1082-1086
- 131 - MAC CARTHY C., SNYDER L.M., PARKER P.B., 1965
The indigenous oral flora of man.
Arch. Oral. Biol., 10, 61
- 132 - MACY J.M., YU I., CALDWELL C., and al., 1978
Reliable sampling method for analysis of the ecology of the human alimentary tract.
Appl. Environ. Microb., 35, (1), 113-120
- 133 - MAFFEI H.V.L., NOBREGA F.J., 1975
Gastric pH and microflora of normal and diarrhoeic infants.
Gut, 16, 719-726
- 134 - MAINGUET P., CATTAN R., 1960
Exploration bacteriologique des diarrhées chroniques par le tubage jéjunale protégé.
Arch. Mal. App. Dig., 49, 189
- 135 - MARTINI G.A., PHEAR E.A., RUEBNER B. et al., 1957
Bacterial content of small intestine in normal and cirrhotic subjects : relation to methionine toxicity.
Clin. Sc., 16, 35-51
- 136 - MAIA L.J., CARILLO C., VILLATORO E., 1969
Fecal microflora in healthy persons in preindustrial region.
Appl. Microbiol., 17, 596-602
- 137 - MITSUOKA T., HAYAKAWA K., 1973
Die Faecalflora bei Menschen. I. Mitteilung : die Zusammensetzung der Faecalflora der verschiedenen Altersgruppen.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 223, 333-342
- 138 - MITSUOKA T., OHNO H., BENNO Y. and al., 1976
Die Faecalflora bei Menschen. IV. Mitteilung : Vergleich des neu entwickelten Verfahrens mit dem bisherigen üblichen Verfahren zur Darmfloraanalyse.
Zbl. Bakt. I. Orig., 234, 219-233
- 139 - MODJADEDY A., FLEURETTE J., 1974
Comparaison de deux méthodes de sérotypie de Staphylococcus aureus : méthode de Pillet et méthode d'Oeding et Haukenes.
Application aux souches types et à des souches sauvages.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 125 B, 367-379
- 140 - MOORE W.E.C., 1965
Int. J. Syst. Bact., 16, 173
- 141 - MOORE W.E.C., HOLDEMAN L.V., 1974
Human fecal flora : the normal flora of 20 Japanese Hawaiians.
Appl. Microbiol., 27, 961-979

- 142 - MORIAMEZ J.C., 1977
Aspects bactériologiques quantitatifs de la flore fécale de l'adulte et du nourrisson. Influence des bactéries contenues dans l'eau minérale sur la flore du nourrisson.
Thèse Pharmacie, Lille.
- 143 - MORRISON S.J., TORNABENE T.G., KLOOS W.E., 1971
Neutral lipids in the study of relationships of members of the family Micrococcaceae.
J. Bacteriol., 108, 353-358
- 144 - MOULIN A.,
Bactériologie des voies génitales chez la femme. Diagnostic au laboratoire
A paraître
- 145 - MULDER J., 1961
Bacteriological examination of sputum in case of acute and chronic bronchitis.
In Bronchitis. Orie and Silviter Edit. Royal Vangorcum Publisher, Assen 1961
- 146 - MULDER J. and al., 1952
Acta Med. Scand., 143, 32
- 147 - MURRAY P.R., WASHINGTON J.A., 1975
Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum.
Mayo Clin. Proc., 50, 339-344
- 148 - NADEL H., GARDNER F.H., 1956
Bacteriological assay of small bowel secretion in tropical sprue.
Am. J. Trop. Med., 5, 686-689
- 149 - NEARY M.P., ALLEN J., OKUBADEJO O.A. and al., 1973
Pre-operative vaginal bacteria and post-operative infections in gynaecological patients.
Lancet, (7841), 1291-1294
- 150 - NELSON D.P., MATA J.L., 1970
Bacterial flora associated with the human gastrointestinal mucosa.
Gastroenterology, 58, 56-61
- 151 - NICHOLS A.G., GLENN P.H., 1940
Intubation studies of the human small intestine.
J. Lab. Clin. Med., 24, 388-398
- 152 - OEDING P., 1952
Serological typing of Staphylococci
Acta Path. Microbiol. Scand., 93, 356-363
- 153 - OEDING P., 1957
Agglutinability of pyogenic Staphylococci at various conditions.
Acta Path. Microbiol. Scand., 41, 310-324

- 154 - OHM M.J., GALASK R.P., 1975
Bacterial flora of the cervix from 100 prehisterectomy patients.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 122, 683-687
- 155 - OKINAKA A.J., DINEEN P., 1968
Bacterial colony counts on bronchial washings.
Ann. Surg., 167, 47-50
- 156 - PARIS J., 1971
La flore intestinale. Sa composition, ses perturbations.
Casenne Editeurs, 158 p.
- 157 - PECORA D.V., 1959
Method of securing uncontaminated tracheal secretions for bacterial examination.
J. Thor. Cardiovas. Surg., 37, 653
- 158 - PECORA D.V., 1963
A comparison of transtracheal aspiration with other methods of determining the bacterial flora of the lower respiratory tract.
New Engl. J. Med., 269, 664-666
- 159 - PECORA D.V., YEGIAN D., 1958
Bacteriology of lower respiratory tract in health and chronic diseases.
New Engl. J. Med., 258, 71-74
- 160 - PENY J., BUISSIÈRE J., 1970
Microméthode d'identification des bactéries. II. Identification du genre Staphylococcus.
Ann. Inst. Pasteur, 118, (1).
- 161 - PERRENOUD J.P., 1957
La pyxigraphie.
Gastroenterologia, 87, 349
- 162 - PETUELY F., LINDNER G., 1960
Kritische Untersuchungen über die Darmflora.
Zbl. Bakt., Abt I, Orig., 177
- 163 - PFAU A., SACKS T., 1977
The bacterial flora of the vaginal vestibule, urethra and vagina in the normal premenopausal women.
J. Urol., 118, (2), 292-295
- 164 - PHAM Q.T., SADOUL P., 1963
Evolution et pronostic de la bronchite chronique.
J. Franç. Med. Chir. Thorac., 17, 643
- 165 - PILHEU J.A., ROBLES A.M., LESLIE A.J.Y. and al., 1966
Efecto de los anestésicos locales empleadas en broncoscopia sobre la flora bacteriana.
Medicina Argentina, 26, 238
- 166 - PILLET J., 1966
L'analyse sérologique des Staphylocoques.
Postepy Mikrobiologii t.v.z., 2

- 167 - PILLET J., ORTA B., 1954
Recherches sur la composition antigénique des Staphylocoques non pathogènes. I. Mise en évidence d'agglutinogènes spécifiques et d'un agglutinogène commun aux souches pathogènes et non pathogènes.
Ann. Inst. Pasteur, 86, 752-758
- 168 - PILLET J., ORTA B., 1970
Recherche sur l'analyse sérologique des Staphylocoques coagulase négatifs. Etude de 2 sérotypes.
Ann. Inst. Pasteur, 119, 193-205
- 169 - PILLET J., ORTA B., 1977
Analyse sérologique des Staphylocoques coagulase négatifs : étude des agglutinogènes caractéristiques des souches types des 9 espèces individualisées par Schleifer et Kloos.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 128 B, 475-486
- 170 - PILLET J., ORTA B., CORRIERAS F., 1967
Sérotypie des Staphylocoques. Intérêt d'une réduction du nombre des souches types utilisées.
Ann. Inst. Pasteur, 113, 363-364
- 171 - PLAUT A.G., GORBACH S.L., NAHAS L. and al., 1967
Studies of intestinal microflora. III. The microbial flora of human small intestinal mucosa and fluids.
Gastroenterology, 53, 868-873
- 172 - POTTER R.T., ROTMAN F., FERNANDEZ F. and al., 1968
The bacteriology of the lower respiratory tract.
Am. Rev. Resp. Dis., 97, 1051-1061
- 173 - RAIBAUD P., DUCLUZEAU R., MOCQUOT G. et al., 1975
Données récentes sur la flore microbienne du tube digestif chez l'homme et les animaux monogastriques.
Rev. Franç. Gynec., 70, 541-547
- 174 - RAWLINGS G.A., 1953
Liquefaction of sputum for bacteriological examination.
Lancet, 265, (2), 538
- 175 - SABATH L.D., GARNER C., WILCOX C., and al., 1976
Susceptibility of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis to 65 antibiotics.
Antimicrob. Agents Chemoth., 2, 962-969
- 176 - SATTA G., VARALDO P.E., GRAZI G., 1977
Lyogroup determination is a new reliable and simple tool for the identification of the different Staphylococcal species.
Communication à la Soc. Franç. Microbiol., Lyon, septembre 1977
- 177 - SCHLEIFER K.H., KANDLER O., 1972
Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications.
Bacteriol. Rev., 36, 407-477

- 178 - SCHLEIFER K.H., KLOOS W.E., 1975
Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of Staphylococcus epidermidis and S. saprophyticus and descriptions of three new species : S. cohnii, S. haemolyticus and S. xylosus.
Int. J. Syst. Bacteriol., 25, 50-61
- 179 - SCHLEIFER K.H., KLOOS W.E., 1975
A simple test system for the separation of Staphylococci from Micrococci.
J. Clin. Microbiol., 1, 337-338
- 180 - SCHLEIFER K.H., KLOOS W.E., 1976
Separation of Staphylococci from Micrococci.
in "Staphylococci and staphylococcal disease". Ed. J. JELJASZEWICZ
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York
- 181 - SEELIGER H.P.R., WERNER H., 1963
Recherches qualitatives et quantitatives sur la flore intestinale de l'homme.
Ann. Inst. Pasteur, 105, 911-936
- 182 - SHINER M., 1963
Capsule for obtaining sterile samples of gastrointestinal fluids.
Lancet, 1, 532
- 183 - SHINER M., WATERS T.E., GRAY J.D.A., 1963
Culture studies of the intestinal tract with a newly devised capsule.
Gastroenterology, 45, 625-632
- 184 - SKAHAN J.M., PARISI J.T., 1977
Development of a bacteriophage typing set for Staphylococcus epidermidis.
J. Clin. Microbiol., 6, 16-18
- 185 - SKINNER F.A., CARR J.G., 1974
The normal microbial flora of man.
Academic Press, London, New York, San Francisco
- 186 - SLOTNICK I.J., STELLUTO M., PRYSTOWSKY H., 1963
Microbiology of the female genital tract. III. Comparative investigation of the cervical flora of parturients receiving either rectal or vaginal examinations.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 85, 519-526
- 187 - SMITH H.W., 1965
Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition.
J. Path. Bact., 89, 95-122
- 188 - SMITH H.W., CRABB W.E., 1961
Faecal bacterial flora of animals and man : its development in young.
J. Path. Bact., 82, 53-66

- 189 - SMITH J.W., BLOOMFIELD A.L., 1950
Development of aerobic bacterial flora of throat in newborn babies.
J. Ped., 36, 51-60
- 190 - SOCRANSKY S.S., GIBBONS R.J., DALE A.C. and al., 1963
The microbiota of the gingival crevice area of man.
Arch. Oral. Biol., 8, 275
- 191 - SOUSSY C.J., DUBLANCHET A., DUVAL J., 1977
Résistance des Staphylocoques aux aminosides et aux Streptogramines.
Communication à la Soc. Franç. Microbiol., Lyon., septembre 1977
- 192 - SPENCER C.D., BEATHY H.N., 1972
Complications of transtracheal aspiration.
New England J. Med., 286, 304-305
- 193 - Subcommittee on Taxonomy of Staphylococci and Micrococci., 1965
Recommandations.
Int. Bull. Bact. Nomencl., 15, 109-110
- 194 - Subcommittee on Taxonomy of Staphylococci and Micrococci., 1976
In "Staphylococci and Staphylococcal Diseases" J.JELJASZEWICZ
Gustav Fisher Verlag. Stuttgart. New York, p. 129
- 195 - TASHJIAN J.H., COULAM C.B., WASHINGTON J.A. II, 1976
Vaginal flora in asymptomatic women
Mayo Clin. Proc., 51, 557-561
- 196 - TAYLOR A.G., 1977
Staphylococcal haemolysins.
Communication à la Soc. Franç. Microbiol., Lyon, septembre 1977
- 197 - THABAUT A., DUROSOIR J.L., DELACROIX P. et al., 1974
La flore bactérienne du vagin, à propos de 995 prélèvements.
Med. Arm., 2, 513-521
- 198 - TORNABENE T.G., MORRISON S.J., KLOOS W.E., 1970
Aliphatic hydrocarbon contents of various members of the family Micrococcaceae.
Lipids, 5, 929-937
- 199 - VACHON A., BARTHE J., SEDALLIAN J. et al., 1968
Le tubage jéjunal protégé.
J. Med. Lyon, 42, 1225
- 200 - VAN BOVEN C.P.A., VERHOEF J., WINCKLER K.C., 1969
Bacteriophage typing of coagulase negative Staphylococci.
Ant. Van Leew., 35, 232
- 201 - VAN DER REIS V., 1925
Die Darmbakterien der Erwachsenen und ihre klinische Bedeutung.
Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk, 27, 77-120

- 202 - VAN HOUTE J., GIBBONS R.J., 1966
Studies of the cultivable flora of normal human feces.
Ant . Van Leew., 32, 212-222
- 203 - VERHOEFF J., VAN BOVEN A., WINCKLER K.C., 1971
Lysogeny in coagulase negative Staphylococci.
J. Med. Microbiol., 4, 405-412
- 204 - WALSH H., HLDEBRANDT R.J., PRYSTOWSKY H., 1966
Further observation on the microbiologic flora of the cervix
and vagina during pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 96, 1129-1131
- 205 - WANNER A., AMIKAM B., ROBINSON M.J. and al., 1973
Comparison between the bacteriologic flora of different segments
of the airways. Examination by bedside bronchofiberscopy.
Respiration, 30, 561-569
- 206 - WEBB C.B., GULASEKHARAM J., GRAYDON J.J., 1971
A bacteriological study of the upper respiratory tract in
normal families.
Med. J. Austral., 1, 735-738
- 207 - WIGGINS H.S., BRAMWELLCOOK H., MC LEOD G.M., 1967
Overdruck mit tijdschrift voor gastro-enterologie
10, 64
- 208 - WILSON G.S., ATKINSON J.D., 1945
Typing of Staphylococci by the bacteriophage method.
Lancet, 248, 647-648
- 209 - ZUBRZYCKI L., SPAULDING E.H., 1962
Studies on the stability of the normal human fecal flora.
J. Bact., 83, 968-974

CONCLUSIONS

Nous avons recherché la présence de Staphylocoques coagulase négatifs dans les cavités internes du corps humain, pour comparer les souches isolées à celles, commensales de la peau et à celles responsables d'infections chez l'homme.

Nous avons effectué 130 coprocultures, chez des sujets sains, des adultes hospitalisés et des enfants hospitalisés, ainsi que 75 cultures d'expectoration chez des adultes, sains et hospitalisés; nous avons aussi recueillis 13 prélèvements divers (aspirations bronchiques et duodénales, prélèvements duodénaux per-opératoires, prélèvements ganglionnaires, lait maternel). Sur ces 218 prélèvements, 96 (44 %) contenaient un (ou plusieurs) Staphylocoque coagulase négatif. Nous avons aussi obtenu 26 souches déjà isolées, de vagin et 6 de prélèvements trachéaux protégés.

Ces Staphylocoques coagulase négatifs ont été isolés sur milieu gélosé de Chapman et sur gélose P à l'acide nalidixique ; puis ils ont été identifiés par la recherche de la sensibilité à la lysostaphine et de la résistance au lysozyme, par la recherche de leurs caractères biochimiques par microméthode standardisée, par la recherche de la DNase, des hémolysines, de la protéine A et par la recherche de la sensibilité aux antibiotiques.

Nous avons isolé 354 souches réparties selon la classification de Schleifer et Kloos en 9 espèces : 264 S. epidermidis (74,58 %), 10 S. haemolyticus, 21 S. hominis, 4 S. warneri, 8 S. capitis, 2 S. simulans, 1 S. saprophyticus, 6 S. cohnii, 5 S. xylosus et 33 souches non classées.

Chaque espèce, et principalement S. epidermidis, a été divisée en groupes grâce à l'étude de 4 caractères biochimiques secondaires: l'utilisation du méthylglucoside et de la N acétylglucosamine, et la présence d'une arginine dihydrolase et d'une uréase.

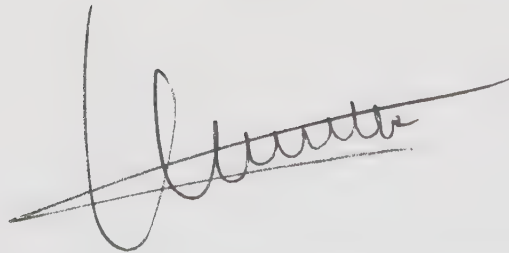
10 souches ont une DNase thermolabile et une souche, non classée, a une DNase thermostable. 32 % des souches sont hémolytiques sur un ou plusieurs milieux au sang, et 1,45 % des souches le sont sur les 3 milieux. Une souche n'est hémolytique que sur sang de mouton. Aucune des 120 souches testées n'a de protéine A.

La recherche des antigènes de S. aureus chez S. haemolyticus a été positive 3 fois sur 8 : 2 souches sont (k1k2, 18) et l'autre est (263-II).

La recherche de la résistance aux antibiotiques a montré une grande fréquence des souches résistantes à plus de 9 antibiotiques (14,5 %), en particulier dans les coprocultures d'enfants. Les souches des sujets hospitalisés sont en général plus résistantes que celles des sujets sains et celles des enfants et des nouveau-nés sont beaucoup plus résistantes que celles des adultes.

La flore des muqueuses internes de l'organisme humain est donc assez semblable à la flore cutanée si ce n'est que S. epidermidis y est plus fréquent et que S. hominis y est plus rare.

Le Président de la Thèse
Professeur J. FLEURETTE



Le Directeur
de l'U.E.R. LYON-NORD

Professeur Agrégé J.P. NEIDHARDT

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LYON, le octobre 1978

Le Président de l'Université
CLAUDE BERNARD LYON I

Professeur D. GERMAIN

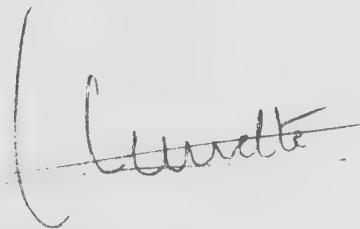
RESUME

Nous avons d'abord testé plusieurs milieux sélectifs pour l'isolement des Staphylocoques coagulase-négatifs et nous avons finalement retenu le milieu gélosé de Chapman et la gélose P à l'acide nalidixique.

314 souches de Staphylocoques coagulase négatifs ont été isolées de 218 prélèvements (130 coprocultures, 75 expectorations et 13 prélèvements divers) chez des sujets sains, ou hospitalisés, adultes ou enfants. Nous avons classé ces souches (ainsi que des souches isolées de vagin et de trachée protégée) en 9 espèces, selon les critères de Schleifer et Kloos, grâce à une microméthode standardisée, d'identification biochimique.

Nous avons recherché sur ces souches la présence d'une DNase (thermolabile et thermostable), d'une ou plusieurs hémolysines, et de protéine A.

Nous avons recherché sur les souches de Staphylococcus haemolyticus les antigènes de S. aureus, selon la méthode de Pillet, puis nous avons recherché la sensibilité aux antibiotiques par la méthode des disques et par la recherche des concentrations minimales inhibitrices.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'L. Pillet', is written over a horizontal line.

